



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

Identificação e Avaliação dos Fatores Influenciadores no Prognóstico de Infecção por
Encephalitozoon cuniculi no Coelho Doméstico (*Oryctolagus cuniculus*)

Luís Bernardo Pereira Ribeiro Pio

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Augusto Farraia e
Silva Meireles

Doutora Sandra de Oliveira
Tavares de Sousa Jesus

Doutor Luís Manuel Madeira de
Carvalho

ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de
Carvalho

CO- ORIENTADOR

Joel Tsou Ferraz

LISBOA

2018



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

Identificação e Avaliação dos Fatores Influenciadores no Prognóstico de Infecção por
Encephalitozoon cuniculi no Coelho Doméstico (*Oryctolagus cuniculus*)

Luís Bernardo Pereira Ribeiro Pio

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Augusto Farraia e
Silva Meireles

Doutora Sandra de Oliveira
Tavares de Sousa Jesus

Doutor Luís Manuel Madeira
de Carvalho

ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de
Carvalho

CO- ORIENTADOR

Joel Tsou Ferraz

LISBOA

2018

«We all have a moral obligation to leave this world
a better place than the world that we've found.»

- Tim McIlrath

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao meu orientador Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho por todo o apoio que me deu ao longo do meu estágio e escrita da tese principalmente pela ajuda na fase inicial em que estava perdido, por me ter sempre apoiado na escolha e desenvolvimento do tema e por nunca me deixar ir abaixo recomendando momentos de lazer sempre que a escrita não estava a correr bem.

Um obrigado ao Centro Veterinário de Exóticos do Porto, particularmente ao meu co-orientador Joel Tsou Ferraz, e à *Clínica Veterinària Exòtics* bem como a todas as pessoas com quem tive o prazer de trabalhar em ambas as clínicas por me terem dado a oportunidade de uma vida de trabalhar com animais exóticos que é, na verdade, a medicina que mais me apaixona e me motiva a fazer sempre mais e melhor.

Um grande obrigado à minha família. À minha mãe por me ter aturado mais tempo do que estava habituada durante o período de escrita da tese e por me ter ensinado a lutar contra as adversidades da vida. Ao meu pai por partilhar comigo a paixão pelos animais. Aos meus irmãos por me terem proporcionado momentos de diversão nos intervalos da tese que também são essenciais para manter a “cabeça limpa” e nunca desesperar. Um particular obrigado à minha namorada Débora Saraiva por me ter apoiado nestes 4 anos, nos bons e nos maus momentos, sempre com um sorriso e boa disposição, por ter ouvido as minhas queixas e desesperos quando a “escrita não saía” e ter estado sempre lá para me voltar a levantar sempre que achava que não conseguia mais.

Não poderia deixar de agradecer meus amigos Emanuel Costa, Anthony Rodrigues, Francisca Gonçalves, João Mendes, João Bernardo, Pedro Dias, Mariana Ruivo, Maria Sousa entre outros.

Por fim um grande obrigado à minha cadela “Nini” por todo o carinho que demonstra sempre que está comigo, à minha tartaruga “Lua” pela companhia que faz e ao meu grande amigo cão-da-pradaria “Pornólio” que me acompanhou até Lisboa e Porto e só não acompanhou além-fronteiras a Barcelona por não ser possível. Por todos os momentos que passamos juntos, por estar sempre lá à minha espera quando chegava a casa ao longo destes 6 anos de faculdade, por todo o carinho e amor que me deu e continua a dar, por ser o meu companheiro de estudo e por me mostrar que os animais exóticos fazem excelentes animais de companhia com muito amor para dar.

RESUMO

IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS FATORES INFLUENCIADORES NO PROGNÓSTICO DE INFECÇÃO POR *Encephalitozoon cuniculi* NO COELHO DOMÉSTICO (*Oryctolagus cuniculus*)

Encephalitozoon cuniculi é um parasita microsporídeo, agente patogénico emergente pertencente ao reino Fungi com distribuição mundial, cujo principal hospedeiro é o coelho, podendo também infetar vários outros seres tal como o Homem, sendo considerado endémico em grande parte da população mundial de coelhos. É mais frequente a ocorrência de uma infeção subclínica, embora possa provocar lesão neurológica, renal e/ou ocular.

Ainda não existe um protocolo terapêutico uniformizado para o tratamento da infeção por *E. cuniculi* devido à falta de estudos e à variância de respostas ao tratamento por parte de animais infetados por este parasita.

Este estudo teve como principal objetivo identificar quais os fatores que podem afetar a capacidade de recuperação de um animal infetado por *E. cuniculi* de forma a facilitar o estabelecimento de um prognóstico. Foi utilizada uma amostra constituída por 111 coelhos cuja história clínica foi obtida a partir da base de dados informática do Centro Veterinário de Exóticos do Porto (CVEP) com uma idade ao diagnóstico compreendida entre 1 mês e 12 anos de idade. A idade média obtida no momento do diagnóstico foi de 3,063 e o rácio entre machos e fêmeas de 1,92:1.

Foi detetada a presença de uma relação estatisticamente significativa entre a idade ao diagnóstico, presença de um quadro clínico renal, presença de vários quadros clínicos em conjunto, gravidade do *head tilt*, presença de incontinência urinária, parésia dos membros posteriores, *rolling*, anorexia e apatia, com as variáveis relacionadas com capacidade de recuperação do animal infetado por *E. cuniculi* na sua forma clínica, pelo que estas variáveis podem ser utilizadas para auxiliar o médico veterinário a estabelecer um prognóstico mais correto.

Palavras-chave: *Encephalitozoon cuniculi*, prognóstico, coelho, síndrome vestibular, uveíte facoclástica, Portugal.

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND EVALUTATION OF THE PROGNOSIS INFLUENCING FACTORS IN AN INFECTION BY *Encephalitozoon cuniculi* IN DOMESTIC RABBIT (*Oryctolagus cuniculus*)

Encephalitozoon cuniculi is an emergent pathogenic microsporidian parasite that belongs to the Fungi kingdom with a worldwide distribution, and whose main host is the rabbit, but can also infect many other beings such as humans, being considered endemic in most of the world's population of rabbits. Normally it causes a subclinical infection, even though it can cause neurological, renal and/or ocular damage.

To this day there is no standardized therapeutic protocol for the treatment of an infection by *E. cuniculi* due to a lack of studies and the variance of responses to treatment on part of infected animals.

The main objective of this study was to identify which factors can affect the recoverability of an animal infected by *E. cuniculi* in order to facilitate the establishment of a prognosis. It was used a sample consisting of 111 rabbits whose medical history was obtained from the computerized database from Centro Veterinário de Exóticos do Porto (CVEP) with an age at diagnosis between 1 month and 12 years of age. The mean age at diagnosis obtained was of 3,063 years old and the ratio between males and females was of 1,92:1.

It was detected the presence of a statistically significant relationship between the age at diagnosis, the presence of a renal manifestation, the presence of multiple types of manifestations simultaneously, the head tilt severity, the presence of urinary incontinence, paresis of the hind limbs, rolling, anorexia and apathy, with the variables related to recoverability of the animal infected by *E. cuniculi* with clinical manifestations, so these variables can be used to assist the veterinarian in establishing a more accurate prognosis.

Keywords: *Encephalitozoon cuniculi*, prognosis, rabbit, vestibular disease, phacoclastic uveitis, Portugal.

ÍNDICE

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE TABELAS	xiv
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS	xvi
PARTE I- RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR	1
NOTA INTRODUTÓRIA	5
CAPÍTULO II- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
1. Etiologia	7
2. Ciclo de Vida e Transmissão	9
3. Resposta Imunitária	11
3.1. Imunidade Celular	11
3.2. Imunidade Humoral.....	12
4. Sinais clínicos	13
4.1. Quadro Clínico Neurológico	13
4.2. Quadro Clínico Renal	15
4.3. Quadro Clínico Ocular	15
5. Diagnósticos Diferenciais	16
5.1. Quadro Clínico Neurológico	16
5.2. Quadro Clínico Urinário.....	18
5.3. Quadro Clínico ocular	18
6. Diagnóstico	18
6.1. Diagnóstico <i>antemortem</i>	18
6.1.1. Exame físico	19
6.1.2. Detecção de esporos na urina	19
6.1.3. Detecção de esporos em tecidos.....	19
6.1.4. Eletroforese serológica (proteinograma)	20
6.1.5. Rácio proteína creatinina urinária (UPC)	20
6.1.6. Análise do Líquido Cefalorraquidiano (LCR).....	20
6.1.7. Serologia.....	21
6.1.8. Polymerase Chain Reaction (PCR)	22
6.2. Diagnóstico <i>post mortem</i>	23

6.2.1.	Alterações neurológicas	23
6.2.2.	Alterações renais	24
6.2.3.	Alterações oculares	24
6.2.4.	Outras alterações	24
7.	Tratamento	24
8.	Profilaxia.....	28
9.	Prognóstico.....	28
CAPÍTULO III- IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS FATORES		
INFLUENCIADORES NO PROGNÓSTICO DE INFECÇÃO POR <i>Encephalitozoon</i>		
<i>cuniculi</i> NO COELHO DOMÉSTICO (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)- ESTUDO		
RETROSPETIVO		
1.	Objetivos	30
2.	Material e Métodos.....	30
2.1.	Desenho do estudo e amostragem	30
2.1.1.	Critérios de inclusão.....	31
2.1.2.	Critérios de exclusão	31
2.2.	Colheita de dados	31
2.2.1.	Variáveis.....	32
2.2.1.1.	Idade no momento do Diagnóstico.....	32
2.2.1.2.	Quadro clínico	32
2.2.1.3.	Sinais clínicos.....	32
2.2.1.4.	Doenças concomitantes	32
2.2.1.5.	Recidiva.....	33
2.2.1.6.	<i>Compliance</i>	33
2.2.1.7.	Desfecho.....	33
2.2.1.8.	Presença de sequelas	33
2.3.	Análise estatística	33
3.	Resultados	34
3.1.	Idade no momento do diagnóstico.....	34
3.2.	Sexo	36
3.3.	Quadro Clínico	37
3.3.1.	Quadro Clínico Neurológico	37
3.3.2.	Quadro Clínico Renal.....	37
3.3.3.	Quadro Clínico Ocular	38
3.3.4.	Vários Quadros Clínicos em Conjunto.....	38

3.4.	Sinais Clínicos.....	39
3.4.1.	Head tilt.....	40
3.4.2.	Anorexia.....	41
3.4.3.	Rolling.....	42
3.4.4.	Apatia.....	43
3.4.5.	Uveíte Facoclástica.....	44
3.4.6.	Incontinência Urinária.....	44
3.4.7.	Nistagmus.....	45
3.4.8.	Desidratação.....	45
3.4.9.	Circling.....	45
3.4.10.	Parésia dos Membros Posteriores.....	46
3.4.11.	Dermatite do Períneo.....	46
3.4.12.	Cataratas.....	47
3.4.13.	Descoordenação.....	47
3.4.14.	Blefarospasmo.....	47
3.4.15.	Conjuntivite.....	47
3.4.16.	Cegueira.....	47
3.4.17.	Hifema.....	48
3.4.18.	Convulsões.....	48
3.4.19.	Hematúria.....	48
3.4.20.	Úlcera da Córnea.....	48
3.4.21.	Hipotermia.....	48
3.4.22.	Deformação do Globo Ocular.....	49
3.4.23.	Disúria.....	49
3.5.	Doenças Concomitantes.....	49
3.5.1.	Doença Dentária Adquirida.....	49
3.5.2.	Infeção Respiratória Superior.....	50
3.5.3.	Hipomotilidade Gastrointestinal.....	50
3.5.4.	Coccidiose Intestinal.....	50
3.5.5.	Tumor testicular.....	50
3.5.6.	Sarna Sarcótica.....	50
3.6.	Recidiva.....	51
3.7.	<i>Compliance</i>	52
3.8.	Desfecho.....	52

3.9. Sequelas.....	53
4. Discussão	54
5. Perspetivas Futuras.....	62
6. Conclusão	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS	75
ANEXO I- Tabela Ilustrativa das Variáveis de Interesse Registadas para cada Animal da Amostra.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 -Esporo de <i>Encephalitozoon cuniculi</i> (Adaptado de Keeling e Fast, 2002)	9
Figura 2 -Ciclo de Vida de <i>Encephalitozoon cuniculi</i> (Adaptado de Jordan et al., 2006a)	11
Figura 3 - Coelho com <i>head tilt</i> (Fotografia cedida por CVEP, 2017)	14
Figura 4 - Coelho com uveíte facoclástica (Fotografia cedida por Clínica Veterinària Exòtics, 2018)	16

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Tabela de contingência das variáveis Idade no momento do Diagnóstico e Desfecho	36
Tabela 2- Tabela de contingência das variáveis Quadro Clínico Renal e Desfecho	38
Tabela 3- Tabela de contingência das variáveis Vários Quadros Clínicos em Conjunto e Desfecho.....	39
Tabela 4- Tabela de Contingência das variáveis Gravidade do <i>Head tilt</i> e Desfecho.....	40
Tabela 5- Tabela de contingência das variáveis Anorexia e Desfecho	41
Tabela 6- Tabela de contingência das variáveis Anorexia e Sequelas	42
Tabela 7- Tabela de contingência das variáveis <i>Rolling</i> e Sequelas	42
Tabela 8- Tabela de contingência das variáveis Apatia e Desfecho.....	43
Tabela 9- Tabela de contingência das variáveis Apatia e Sequelas	44
Tabela 10- Tabela de contingência das variáveis Incontinência Urinária e Desfecho	45
Tabela 11- Tabela de contingência das variáveis Parésia dos Membros Posteriores e Desfecho	46

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Distribuição do número de horas de estágio despendidas por serviço.....	2
Gráfico 2- Distribuição da casuística por classe de animais observados	3
Gráfico 3- Frequências absolutas e relativas da variável Idade no momento do Diagnóstico ...	35
Gráfico 4- Frequências absolutas e relativas da variável Sexo	36
Gráfico 5- Frequências absolutas e relativas da variável Recidiva	51
Gráfico 6- Frequências absolutas e relativas da variável Desfecho	52
Gráfico 7- Frequências absolutas e relativas da variável Sequelas	53

LISTA DE ABREVIATURAS

°C – Grau Celsius

µm – Micrómetro

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

AFT – *Acid Fast Trichrome*

ARN – Ácido Ribonucleico

ARNr – Ácido Ribonucleico ribossómico

CIA – *Carbon Immuno Assay* (Imuno-ensaio de Carbono)

CVEP – Centro Veterinário de Exóticos do Porto

E. cuniculi – *Encephalitozoon cuniculi*

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática)

Fig. – Figura

IFAT – *Immunofluorescence Antibody Test* (Teste de Imunofluorescência Directa)

IFN – Interferão

Ig - Imunoglobulinas

IL – Interleucinas

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

Mb – Mega pares de bases

MIMV – Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

NACs – Novos Animais de Companhia

NK – *Natural Killer*

PCR – *Polymerase Chain Reaction* (Reacção em Cadeia da Polimerase)

pH – Potencial de Hidrogénio

PO – *per os* (Via oral)

SID – *semel in die* (Uma vez por dia)

TAC – Tomografia Axial Computorizada

UPC – *Urine Protein/Creatinine Ratio* (Rácio Proteína/Creatinina Urinária)

VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana

PARTE I- RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) teve uma duração total de 6 meses, resultando em 839 horas efetivas (1 de setembro de 2017 a 3 de março de 2018). Focou-se, essencialmente, na clínica dos novos animais de companhia (NACs) nomeadamente nas áreas de Medicina Interna, Imagiologia e Cirurgia (Gráfico 1). O estágio foi repartido por dois locais: Centro Veterinário de Exóticos do Porto (CVEP) por 4 meses (total de 539 horas) e a *Clínica Veterinària Exòtics* de Barcelona por 2 meses (total de 300 horas).

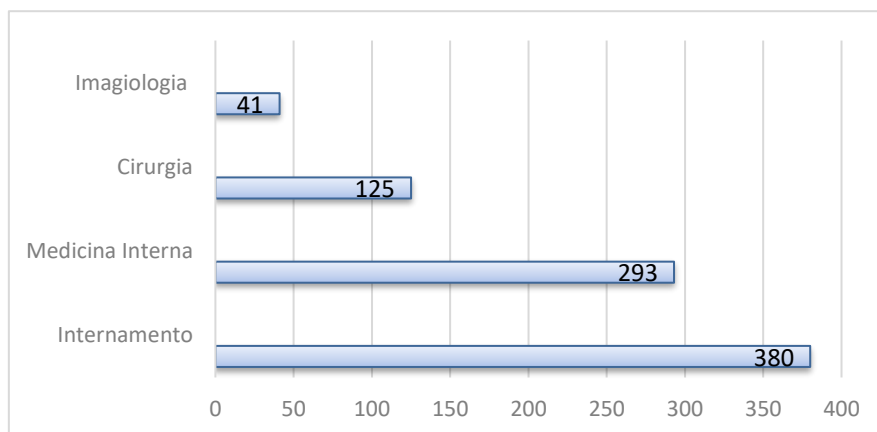
No CVEP os horários apresentavam um sistema de rotatividade semanal dividindo-se em dois turnos: turno de manhã (das 10h às 16h) e turno da tarde (das 16h às 22h) perfazendo assim um total de 6 horas diárias. A estes, acrescia dois turnos de fim-de-semana (das 10h às 22h) por mês e um turno noturno (das 24h às 9h) por semana.

Na *Clínica Veterinària Exòtics* os horários apresentavam um sistema de rotatividade semanal semelhante sendo que o turno da manhã começava às 9h e terminava às 16h e o turno da tarde tinha início às 14h indo até às 21h, perfazendo assim um total de 7 horas diárias. A estes, acrescia três turnos de fim-de-semana por mês (das 10h às 14h).

Durante este período, o estagiário teve a oportunidade de participar nas mais variadas atividades relacionadas com o dia-a-dia de ambas as clínicas principalmente em trabalho de internamento, mas também acompanhando consultas, cirurgias e a execução de métodos de diagnóstico complementares. No internamento o estagiário pode auxiliar na preparação e administração da medicação aos animais internados e monitorização contínua dos mesmos, bem como a higienização das suas instalações e reposição da sua comida e água sempre que necessário. No âmbito da Medicina Interna, o estagiário teve a possibilidade de assistir a uma grande variedade de consultas onde podia auxiliar na contenção do animal e, no caso específico do estágio no CVEP, iniciar a consulta colhendo a anamnese e fazendo um breve exame físico para posteriormente transmitir todas as informações relevantes ao Médico Veterinário para que este pudesse continuar a consulta propriamente dita. No que diz respeito às cirurgias, o estagiário teve a possibilidade de assistir e participar numa grande variedade de cirurgias de tecidos moles e tratamentos dentários, seja como ajudante de cirurgião, como anestesiista ou ainda como

circulante. Para além disso, pôde auxiliar na preparação pré-cirúrgica do animal bem como na sua indução anestésica e monitorização pós cirúrgica. Foi ainda possível assistir e auxiliar na execução de vários métodos complementares de diagnóstico, nos quais se destaca a radiografia (contrastada ou não), ecografia, análises sanguíneas, exames coprológicos e tiras urinárias.

Gráfico 1- Distribuição do número de horas de estágio despendidas por serviço



No que diz respeito à casuística (Gráfico 2), os mamíferos foram a classe mais prevalente representando assim 64% dos animais observados, onde estão incluídos o coelho (*Oryctolagus cuniculus*), o cobaio (*Cavia porcellus*), a chinchila (*Chinchilla lanigera*), o hamster-russo (*Phodopus spp.*), a ratazana (*Rattus norvegicus*), o hamster sírio (*Mesocricetus auratus*), o furão (*Mustela putorius furo*), o porco vietnamita (*Sus scrofa domesticus*), o ouriço pigmeu africano (*Ateleryx albiventris*), a doninha fedorenta (*Mephitis mephitis*), o cão-da-pradaria de cauda preta (*Cynomys ludovicianus*), o esquilo-terrestre-de-richardson (*Spermophilus richardsonii*), o esquilo siberiano (*Tamias sibiricus*), o degu (*Octodon degus*), o gerbo (*Meriones unguiculatus*), o petauro-do-açúcar (*Petaurus breviceps*) e o suricata (*Suricata suricatta*). Dentro desta classe, os motivos de consulta mais prevalentes foram desparasitações e vacinações de rotina, e situações de anorexia e perda de peso (frequentemente provocadas por problemas dentários ou gastrointestinais). No que diz respeito à cirurgia, os tratamentos dentários e as orquiectomias/ovariohisterectomias eletivas foram as mais prevalentes.

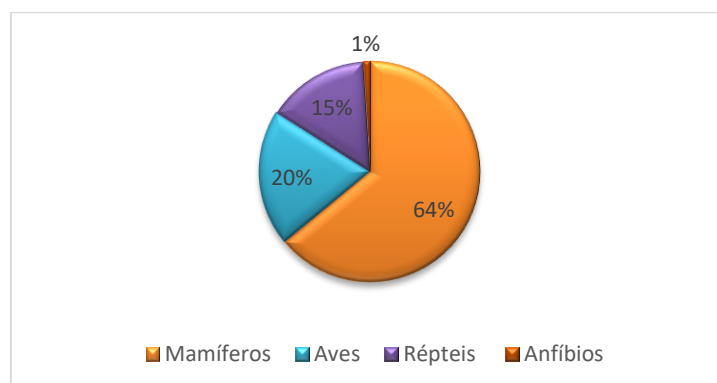
A seguir aos mamíferos, a classe mais prevalente foi a das aves representando 20%. Nesta estavam incluídos o canário (*Serinus canaria*), papagaio-cinzento (*Psittacus*

erithacus), amazona (*Amazona leucocephala*), periquito-comum (*Melopsittacus undulatus*), agapornis (*Agapornis* spp.), caturra (*Nymphicus hollandicus*), arara-vermelha (*Ara chloropterus*), cacatua-de-crista-amarela (*Cacatua galerita*), pombo-comum (*Columba livia*), periquito-monge (*Myiopsitta monachus*), tuim (*Forpus coelestis*), mandarim (*Taeniopygia guttata*) e rola (*Streptopelia* spp.). Nas aves, os principais motivos de consulta foram picacismo e problemas respiratórios enquanto a intervenção cirúrgica mais frequentemente observada foi a salpingectomia por exaustão por excesso de postura.

Ainda foi possível observar um grande número de répteis, cerca de 15%, tais como uma grande variedade de tartarugas semi-aquáticas (*Trachemys* spp., *Pseudemys* spp., *Graptemys* spp., etc.) e terrestres (*Geochelone sulcata*, *Testudo* spp., *Mauremys* spp., *Kinixys belliana*), vários ofídios (*Pantherophis guttatus*, *Python regius*) e sáurios como o camaleão do Iémen (*Chamaeleo calytratus*), gecko-leopardo (*Eublepharis macularius*), iguana-verde (*Iguana iguana*), dragão-barbudo (*Pogona vitticeps*) e o lagarto-de-língua-azul-indonésio (*Tiliqua gigas*). Nesta classe os principais motivos de consulta estavam relacionados com o manejo, dos quais se destacaram a hipocalcémia por falta de radiação ultravioleta B e as queimaduras térmicas. A cirurgia observada mais frequentemente foi a ovariosalpingectomia devido à estase pré e pós ovulatória.

Por fim, com uma prevalência bastante baixa, apenas 1%, foram observados anfíbios, nos quais a única espécie registrada foi a rã Pacman (*Ceratophrys* spp.) por problemas relacionados com manejo (hipocalcémia por falta de radiação ultravioleta B). Não foi observada qualquer cirurgia em animais pertencentes a esta classe.

Gráfico 2- Distribuição da casuística por classe de animais observados



Assim, com este estágio, o aluno teve a oportunidade de desenvolver várias competências teóricas e práticas nas mais variadas áreas da medicina veterinária de NACs (maneio, contenção, alimentação, anatomia, fisiologia, farmacologia, cirurgia, medicina interna, etc), assistir a um grande número de casos clínicos e cirurgias de diferentes graus de complexidade, bem como melhorar o seu espírito crítico e raciocínio médico. Foi ainda possível desenvolver a capacidade de comunicação tanto dentro da equipa clínica como com os clientes, bem como ter uma melhor perceção da realidade do dia-a-dia de uma clínica veterinária de animais exóticos, tanto em Portugal, como no estrangeiro.

NOTA INTRODUTÓRIA

A clínica dos Novos Animais de Companhia (NACs, também conhecidos como animais exóticos) é uma área da Medicina Veterinária que nos últimos anos tem registado um aumento bastante significativo da sua relevância, devido à sua crescente procura como animais de companhia e, conseqüentemente, à procura dos respetivos serviços médico-veterinários por parte dos seus tutores (Fiskett, 2005). Para além disto, também o número de médicos veterinários com interesse por esta área tem aumentado.

Dos NACs, é no coelho (*Oryctolagus cuniculus*) que se tem observado uma notória mudança de paradigma. Este é usado há séculos como animal de produção, no entanto, apenas recentemente se tem começado a olhar para esta espécie também como um possível animal de companhia, principalmente pelo facto de serem animais bastante dóceis e de fácil maneo (Meredith & Flecknell, 2006).

No entanto, o aparecimento destas novas espécies de animais de companhia pode trazer algumas preocupações no que diz respeito à saúde pública. Cerca de 61% das doenças que ocorrem em Humanos têm uma origem potencialmente zoonótica e 75% das doenças emergentes humanas têm ligação aos animais selvagens (Warwick, Arena, Steedman & Jessop, 2012). Estas espécies de NACs podem atuar como reservatório de uma grande quantidade de agentes infecciosos (parasitas, vírus, bactérias e fungos), alguns dos quais com potencial zoonótico (Robertson, Irwin, Lymbery & Thompson, 2000). Assim, com a crescente aproximação destes animais ao homem, que não o cão e o gato, potencia-se o risco de transmissão destes agentes infecciosos. Esta situação é agravada pelo facto de ainda não terem sido realizados muitos estudos acerca deste tema, podendo ainda existir muitos agentes desconhecidos com potencial zoonótico (Warwick *et al.*, 2012). Assim, deparamo-nos com a necessidade de que sejam implementadas várias medidas de biossegurança pelo médico veterinário para minimizar os potenciais riscos associados a esta aproximação, de forma a reduzir a possibilidade de contágio e disseminação destas doenças. Desta forma, é de extrema importância a educação dos tutores no que diz respeito tanto às principais doenças com potencial zoonótico que estes animais possam transmitir, como ao correto maneo e manutenção destes animais nas melhores condições de higiene. É ainda aconselhada a realização de rastreios frequentes

principalmente quando o animal apresenta sinais clínicos compatíveis com uma doença potencialmente zoonótica ou aquando do ato de compra (Warwick *et al.*, 2012).

Encephalitozoon cuniculi é um exemplo destes agentes com potencial zoonótico cujo principal hospedeiro é o coelho, o qual pode atuar também como reservatório (Lennox & Kelleher, 2009). É considerado um microsporídeo patogénico emergente com uma distribuição mundial, que pode infectar uma grande variedade de mamíferos, nomeadamente o ser humano (Canningan & Hollister, 1987), o que o torna um agente com uma grande importância para a saúde pública (Wasson & Peper, 2000). Nos Humanos, afeta principalmente indivíduos imunodeprimidos, como é o caso não só de portadores do vírus VIH (vírus da imunodeficiência humana), como também doentes transplantados, idosos, crianças ou mulheres grávidas (Didier & Weiss, 2011), provocando um quadro clínico caracterizado principalmente por diarreias persistentes (Didier, Didier, Snowden & Shadduck, 2000).

No caso do coelho, sabe-se que *E. cuniculi* é um agente com uma elevada prevalência, tanto em Portugal como no estrangeiro (Dipineto *et al.*, 2008; Igarashi *et al.*, 2008; Tee *et al.*, 2011; Patrício, 2014; Shin, Kim, Kim, Kim & Song, 2014; Baldotto, Cray, Giannico, Reifur & Montiani-Ferreira, 2015; Yaoqian, Shuai, Xingyou, Ruizhen & Yuqian, 2015), sendo, portanto, considerado endémico em grande parte da população mundial de coelhos (Mathis, Weber & Deplazes, 2005). Assim, e tendo em conta que a frequência de casos graves está a aumentar nos coelhos - apesar de a infeção subclínica continuar a ser a mais frequente -, é importante estudar quais os tratamentos com maior eficácia e que fatores podem condicionar o seu sucesso e a recuperação destes animais (Harcourt-Brown, 2004; Künzel & Joachim, 2010).

A presente dissertação tem como principal objetivo tentar descrever quais os principais fatores influenciadores do prognóstico de coelhos infetados por *Encephalitozoon cuniculi* na sua forma clínica, para que o Médico Veterinário possa, de uma forma mais clara, escolher o protocolo terapêutico mais adequado para cada caso em particular, tendo em conta a probabilidade de recuperação do animal, bem como informar os tutores dessa mesma probabilidade de recuperação dos animais, de forma a gerir as suas expectativas e para que estes possam tomar uma decisão de forma mais informada e consciente.

CAPÍTULO II- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Etiologia

Os microsporídeos foram identificados pela primeira vez em meados do século XVII em França e Itália, como causadores de pébrine, também conhecida como *pepper disease*, uma doença que afeta os bichos-da-seda e que é provocada por *Nosema bombycis* (Wittner, 1999). Em 1882 foi criada a ordem Microsporidia e em 1976 foi estabelecido o filo Microspora o qual foi inicialmente classificado como pertencente ao sub-reino Protozoa dentro do reino Protista (Wittner, 1999). Mais tarde, a designação do filo foi alterada para Microsporidia (Sprague, Becnel & Hazard, 1992). Inicialmente pensava-se que os microsporídeos não apresentavam mitocôndrias, e, portanto, foram considerados formas muito básicas de eucariotas (Vossbrink *et al.*, 1987). Para além disso, as sequências de ARN ribossómico assemelhavam-se mais às dos procariotas do que eucariotas (Künzel & Joachim, 2010), não apresentam centríolos nem peroxissomas e o complexo de Golgi é atípico (Weiss, 2001), o que parecia suportar essa ideia. No entanto, foram recentemente identificadas pequenas mitocôndrias (conhecidas como mitossomas) ao nível dos organelos celulares, característica considerada agora como diferencial dos microsporídeos (Künzel & Fisher, 2018). Esta descoberta associada a análises filogenéticas de várias sequências genéticas permitiu reclassificar os microsporídeos como pertencentes ao reino Fungi (Katinka, 2001). Ainda não se sabe ao certo qual a sua classificação exata dentro deste reino, no entanto as evidências mostram uma grande semelhança com espécies de basidiomicetos e ascomicetos (Didier, 2005).

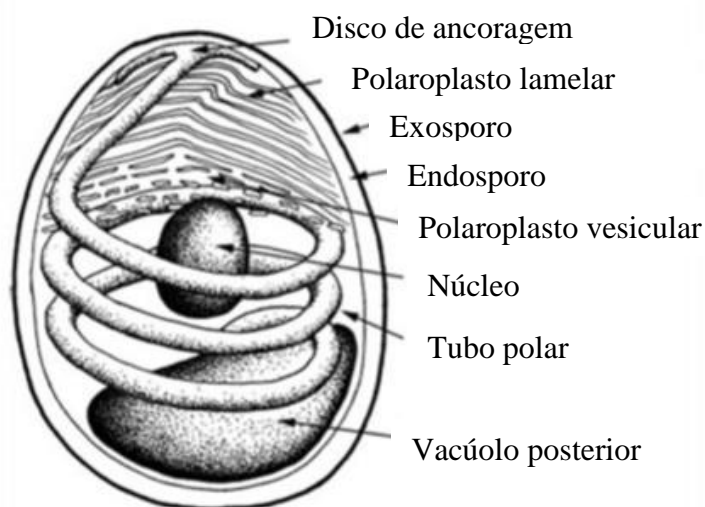
Encephalitozoon cuniculi é um microsporídeo patogénico gram-positivo, unicelular, intracelular obrigatório, formador de esporos que medem aproximadamente $2.5 \times 1.5 \mu\text{m}$ (Wasson & Peper, 2000) pertencente ao filo Microsporidia classe Microsporea e ordem Microsporidia (Didier, 2005) que pode infectar uma grande variedade de espécies de mamíferos, tendo já sido documentado em coelhos, ratos, ratazanas, rato-almiscarado, cobaias, hámsteres, musaranhos, cabras, ovelhas, porcos, cavalos, cães, raposas, gatos, vários carnívoros selvagens, primatas e humanos (Halanova *et al.*, 2003; Levkutová *et al.*, 2004; Didier, 2005). Para além dos mamíferos, está também documentada a infeção em aves (Poonacha, William & Stamper, 1985; Reetz *et al.*, 2004). Foi descrito pela primeira vez em 1922, onde foi identificado como um microrganismo causador de paralisia motora infecciosa em coelhos de laboratório (Wright & Craighead, 1922), tendo

sido classificado como *Encephalitozoon cuniculi* em 1923 por Levaditi (Didier, 2005). Apresenta o genoma mais curto alguma vez descrito dentro dos eucariotas (<2.9 Mb) (Katinka, 2001).

Existem três estirpes diferentes de *Encephalitozoon cuniculi*, classificadas de acordo com o número de repetições GTTT no seu ARNr as quais foram identificadas através de técnicas imunológicas e moleculares (Didier *et al.*, 1995). Diferentes estirpes apresentam diferentes hospedeiros preferenciais e têm diferentes distribuições geográficas. A estirpe I (cariótipos A, B e C) foi documentada em coelhos, ratos e humanos e já foi identificada na América, Austrália e Europa; a estirpe II (cariótipo F) foi documentada em raposas, ratos e gatos, tendo sido identificada apenas na Europa; por último, a estirpe III (cariótipos D e E) foi documentada em cães e humanos e foi identificada na América e África do Sul. Para além destas, existem outras estirpes não classificadas que podem infectar outras espécies de animais (Didier *et al.*, 2000). Recentemente foi identificada uma nova estirpe num paciente humano recipiente de um transplante renal que apresentava uma infeção generalizada por *E. cuniculi* (Talabani *et al.*, 2010).

Os esporos de *Encephalitozoon cuniculi* (Fig. 1) (forma madura e infetante) são ovais e são constituídos por uma cápsula polar (Harcourt-Brown & Holloway, 2003), exosporo, endosporo, esporoplasma (material infeccioso do esporo), filamento polar, polaroplasto (complexo de Golgi atípico), vacúolo posterior, núcleo e ribossomas (Keeling & Fast, 2002). O exosporo consiste numa membrana externa lisa, proteica, eletrodensa e fibrosa. Já o endosporo consiste numa membrana interna eletrolucente mais quitinosa. Estas duas membranas têm como principal função conferir ao esporo resistência no meio ambiente (Didier, 2005). O filamento polar consiste numa estrutura glicoproteica que é exteriorizada quando o esporo é estimulado e que tem como função a inoculação do esporoplasma num vacúolo parasitóforo na célula hospedeira (Harcourt-Brown & Holloway, 2003). O núcleo é monocariota e tem uma localização central (Didier *et al.*, 2000).

Figura 1-Esporo de *Encephalitozoon cuniculi* (Adaptado de Keeling e Fast, 2002)



2. Ciclo de Vida e Transmissão

Encephalitozoon cuniculi apresenta um ciclo de vida direto com uma duração de 3 a 5 semanas (Fig. 2) (Jordan, Zajac & Lindsay, 2006a), sendo que a transmissão pode ocorrer tanto de forma horizontal através da ingestão de água ou comida contaminadas com esporos de *Encephalitozoon cuniculi* ou inalação desses mesmos esporos (Mathis *et al.*, 2005), como vertical pela via transplacentária, embora se tenha chegado à conclusão de que nem todas as fêmeas infetadas transmitem o parasita à descendência (Baneux & Pognan, 2003). A transmissão vertical leva principalmente à ocorrência da forma ocular, sendo o cristalino o alvo mais frequente, caracterizada pela uveíte facoclástica por rutura da lente devido à infecção granulomatosa provocada pelos esporos (Wolfer, Grahn, Wilcock & Percy, 1993). Experimentalmente foram também descritas as vias intravenosa, intraperitoneal, intracerebral e intrarrectal (Cox, Hamilton, & Attwood, 1979; Shaddock, Watson, Pakes & Cali, 1979; Wicher *et al.*, 1991; Horváth, Svicky & Sevcikova, 1998). A dose infetante necessária para causar doença em 50% de uma população de coelhos é apenas de 46 esporos de *E. cuniculi* (Cox, Hamilton, Pye & Edmonds, 1986). Após a entrada do parasita, este infecta os enterócitos (ou eventualmente células do aparelho respiratório), iniciando o seu processo de replicação após o qual começa a sua disseminação para outros órgãos (baço, fígado, pulmão, coração) através da circulação sanguínea, sem provocar, no entanto, lesões significativas (Cox *et al.*, 1979). É após esta

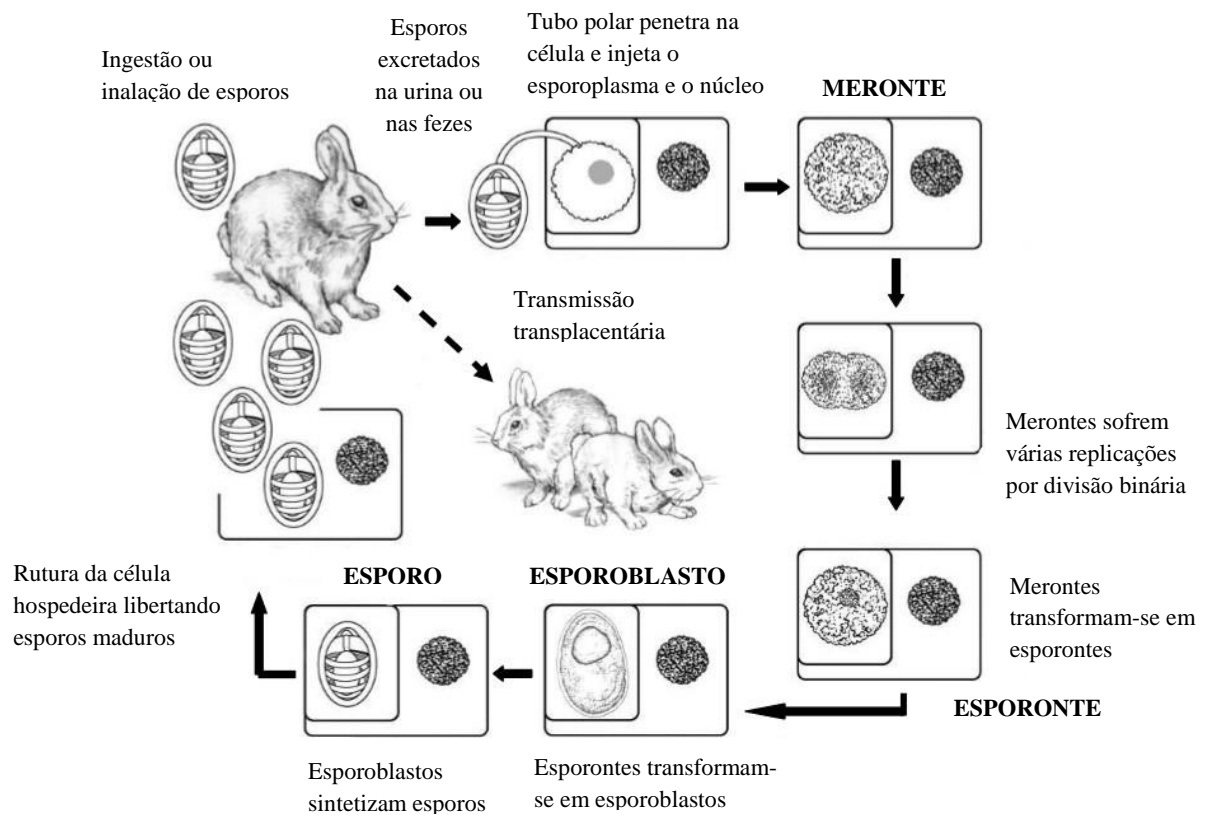
primeira disseminação que o parasita se dirige para os seus órgãos alvo (rim, olhos e cérebro), onde é atingido um estado de equilíbrio com o sistema imunitário do hospedeiro (Jordan *et al.*, 2006a), sendo que as alterações mais relevantes nestes órgãos só são notórias três meses após a infecção inicial (Künzel & Joachim, 2010). É mais frequente que esta infecção se traduza num quadro subclínico, no entanto o quadro clínico típico pode ocorrer, principalmente caso algum fator depressor do sistema imunitário (como o stress) quebre este equilíbrio.

Os esporos são excretados pela urina em grandes quantidades desde o 1º mês após a infecção até ao 3º. A partir dessa altura, a excreção ocorre de forma intermitente e em quantidades muito menores. Estes podem sobreviver até 6 semanas no exterior a uma temperatura de 22°C (Künzel & Fisher, 2018).

Para infetar as células alvo, primeiro os esporos têm de passar por um complexo processo de germinação. Este consiste na extrusão do filamento polar aquando de alterações do pH ou de pressão osmótica, com a inoculação do esporoplasma na célula hospedeira num vacúolo parasitóforo (Bohne, Böttcher & Groß, 2011). Eventualmente, pode ocorrer fagocitose dos esporos, sendo que nesse caso o esporoplasma passa diretamente para o fagossoma da célula hospedeira (macrófago) (Franzen, Müller, Hartmann & Salzberger, 2005). No entanto, alguns estudos sugerem que a germinação dos esporos fagocitados não consiste numa forma de infecção significativa (Orlik, Böttcher, Groß & Bohne, 2010).

Dentro do vacúolo parasitóforo na célula hospedeira, o esporoplasma passa para a sua forma proliferativa denominada de meronte e inicia-se a divisão por merogonia (divisão binária). Após este processo os merontes diferenciam-se em esporontes e posteriormente em esporoblastos. É a partir destes esporoblastos que os esporos maduros infetantes são formados após a síntese de todos os seus organelos essenciais, processo denominado de esporogonia. Quando a célula hospedeira fica cheia de esporos, esta rebenta, havendo a disseminação dos mesmos pelo organismo do hospedeiro (Didier *et al.*, 2004). Esta rutura da célula hospedeira leva frequentemente a uma resposta inflamatória crónica com a formação de lesões granulomatosas nos órgãos alvo, sendo os principais órgãos afetados os rins e o cérebro. Nos restantes órgãos as lesões provocadas não são significativas (Harcourt-Brown & Holloway, 2003).

Figura 2-Ciclo de Vida de *Encephalitozoon cuniculi* (Adaptado de Jordan et al., 2006a)



3. Resposta Imunitária

O tipo de resposta por parte do sistema imunitário do hospedeiro à infecção por *E. cuniculi* desempenha um papel importante na progressão da mesma para um estado de doença, visto se tratar de um parasita oportunista. Como já foi referido, nos coelhos a infecção subclínica é a forma mais frequente, só ocorrendo doença em casos de imunodepressão, em que ocorre um desequilíbrio entre a multiplicação do parasita e a correspondente resposta imunitária (Valencakova & Halanova, 2012).

3.1. Imunidade Celular

E. cuniculi é um parasita predominantemente intracelular, pelo que o tipo de resposta imunitária mais eficaz é a imunidade celular. Esta resposta imunitária é mediada pelos linfócitos-T CD4+ e CD8+, que quando ativados produzem interleucinas (IL-10, IL12, entre outras) e outros fatores pró-inflamatórios (dos quais se destaca o IFN- γ), que facilitam a ação fagocítica imunomediada dos macrófagos sobre os esporos (Valencakova

& Halanova, 2012). Pensa-se que o endosporo quitinoso dos esporos de *E. cuniculi* possa ser quimiotático para os macrófagos, iniciando o processo de recrutamento de linfócitos-T (Rodriguez-Tovar, Speare & Markham, 2011). Posteriormente os macrófagos produzem fatores pró-inflamatórios que levam ao recrutamento de mais células inflamatórias, tais como os monócitos, culminando com a formação de lesões granulomatosas na tentativa de resolver a infecção (Valencakova & Halanova, 2012). Também está demonstrado que as células NK (*Natural Killer*) desempenham um papel importante na mediação da imunidade inata, principalmente através da sua ação na lise de células infectadas através da via das perforinas mas também através da secreção de IFN- γ e consequente mediação da atividade dos macrófagos (La'Toya, Bradley & Wyre, 2014). Por último, também as células dendríticas e células fagocitárias não dedicadas (células epiteliais, mesenquimatosas, endoteliais e fibroblastos), parecem ter alguma importância na resposta imunitária celular contra os esporos de *E. cuniculi* (Valencakova & Halanova, 2012).

No entanto, caso os macrófagos não consigam eliminar os esporos fagocitados, estes migram através do sistema linfático e corrente sanguínea dentro dos macrófagos que atuam como autênticos “cavalos de Tróia”, pois auxiliam a sua dispersão pelo organismo (Valencakova & Halanova, 2012). Isto acontece porque os esporos têm a capacidade de inibir a fusão entre o fagossoma e o lisossoma dos macrófagos, ficando assim protegidos contra a ação do sistema imunitário do hospedeiro (Franzen *et al.*, 2005).

3.2. Imunidade Humoral

Qualquer animal imunocompetente que seja exposto a uma infecção por *E. cuniculi* produz anticorpos que persistem para toda a vida, no entanto não conferem proteção contra uma possível reinfeção (La'Toya *et al.*, 2014).

A administração de soros hiperimunes a ratos atímicos infectados por *E. cuniculi*, não foi eficaz no prolongamento da sua sobrevivência, pelo que se pode concluir que a imunidade humoral por si só não consiste numa barreira eficaz contra a infecção, sendo que a importância da imunidade humoral contra este parasita parece estar limitada à destruição de células infectadas através da opsonização (Valencakova & Halanova, 2012).

Nas primeiras duas semanas após infecção, é iniciada a produção de imunoglobulinas G (IgG), mediada pelos linfócitos B. Os níveis de IgG atingem o seu máximo por volta

das 5-6 semanas após a infecção e persistem para toda a vida, pelo que a sua deteção consiste num importante método de diagnóstico (Valencakova & Halanova, 2012). No entanto, a IgG por si só não permite distinguir um animal seropositivo com uma infecção clínica de um animal apenas portador. Para isso é importante fazer a comparação dos valores tanto de IgG como de IgM, pois os valores de IgM tendem a diminuir com o passar do tempo após a infecção, enquanto os valores de IgG mantêm-se elevados. Assim, um valor de IgM elevado indica uma infecção aguda, reativada ou reinfeção pelo que se deverá iniciar a terapia específica contra *E. cuniculi* (Jeklova *et al.*, 2010).

Os anticorpos maternos são passados à descendência através do colostro, conferindo proteção durante cerca de 4 semanas (Khan, Moretto & Weiss, 2001). A produção de anticorpos aquando de uma infecção ativa só ocorre a partir das 8-10 semanas de idade, pelo que entre as 4 e as 8 semanas de idade os animais são seronegativos e, portanto, mais suscetíveis a uma infecção grave (Santaniello *et al.*, 2009).

4. Sinais clínicos

Os sinais clínicos apresentados por animais infetados por *E. cuniculi* variam de caso para caso. Apesar da forma crónica subclínica ser a mais prevalente, também é possível a ocorrência de doença grave e até mesmo morte súbita (Tee *et al.*, 2011), principalmente aquando de um evento stressante para o animal (Künzel & Joachim, 2010). Existem três tipos principais de apresentações clínicas (neurológica, renal e ocular), que tendem a aparecer isoladamente, embora esteja também documentada a sua ocorrência em conjunto, sendo a apresentação neurológica a mais frequente (Künzel & Joachim, 2010). Apesar dos sinais clínicos dependerem da ação direta do parasita e da resposta inflamatória montada aquando da rutura celular e libertação do parasita (Csokai *et al.*, 2009b), animais seropositivos que apresentem alterações histopatológicas ligeiras e até mesmo graves podem não apresentar qualquer sinal clínico (Csokai, Gruber, Künzel, Tichy & Joachim, 2009a). Para além disso, o grau de gravidade histológica da inflamação parece não apresentar uma relação direta com a gravidade dos sinais clínicos neurológicos apresentados pelo animal (La'Toya *et al.*, 2014).

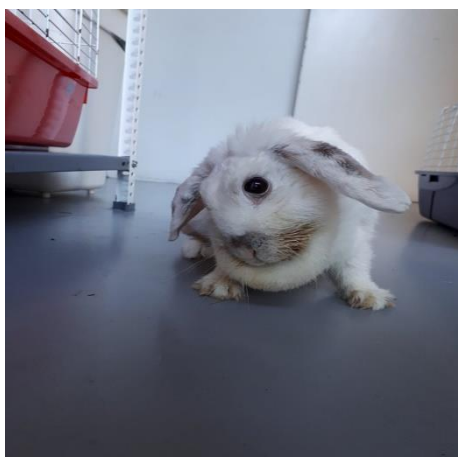
4.1. Quadro Clínico Neurológico

Como já referido, o quadro clínico neurológico é o mais frequentemente associado a uma infecção por *E. cuniculi* (Harcourt-Brown, 2004). Estes sinais neurológicos devem-

se a uma infiltração perivascular que frequentemente leva ao desenvolvimento de meningoencefalite granulomatosa generalizada ou focal (Csokai *et al.*, 2009a). A região mais afetada é normalmente o cérebro, no entanto também o tronco cerebral, medula espinal e cerebelo podem apresentar lesões inflamatórias (Künzel & Joachim, 2010). Eventualmente pode ocorrer radiculite espinal focal (Nast, Middleton & Wheler, 1996), provocando sinais neurológicos atípicos (Künzel & Joachim, 2010).

Os sinais clínicos neurológicos apresentados pelo animal podem variar muito, no entanto a alteração mais frequentemente detetada é a presença de disfunção vestibular, caracterizada por *head tilt* (cabeça inclinada) (Fig. 3), ataxia, nistagmo, *circling* (deslocação em círculos) e *rolling* (rebolar o corpo), sinais que tendem a aparecer subitamente aquando de um evento stressante para o animal. Pequenas alterações, como o balançar da cabeça durante o repouso ou ligeira ataxia podem ser os únicos sinais apresentados pelo animal, sendo necessário um proprietário atento para os detetar (Künzel & Fisher, 2018). Está demonstrado que a maior parte dos casos de animais com *head tilt*, mesmo que muito marcado, mantêm a capacidade de ingestão de alimentos (Künzel & Joachim, 2010). Para além de sinais indicativos de disfunção vestibular, também estão descritos outros sinais neurológicos como convulsões, parésia, tremores, alterações comportamentais (agressividade, correr e saltar contra as grades da jaula, automutilação) e ainda défices nos nervos cranianos (Jordan *et al.*, 2006a). As convulsões também podem ser explicadas por uma mineralização da artéria aorta e consequente alteração da vascularização cerebral devido à insuficiência renal crónica que pode ser causada pela infeção por *E. cuniculi* (Harcourt-Brown, 2004). Muitas vezes estes animais podem ficar cegos ou comatosos e podem não conseguir recuperar (Jordan *et al.*, 2006a).

Figura 3- Coelho com *head tilt* (Fotografia cedida por CVEP, 2017)



4.2. Quadro Clínico Renal

A afeção renal decorrente de uma infeção por *E. cuniculi* ocorre através do desenvolvimento de uma nefrite intersticial granulomatosa e fibrose glomerular (Jeklova *et al.*, 2010). No entanto, a maior parte dos casos em que esta afeção se desenvolve não apresenta qualquer tipo de sinais clínicos (Künzel & Joachim, 2010). Apenas raramente se atinge um estado de insuficiência renal crónica com a presença de sinais clínicos não específicos, tais como inapetência, perda de peso, anorexia, letargia e desidratação (Harcourt-Brown & Holloway, 2003). Menos frequentemente também podem apresentar anemia ou osteodistrofia, com a ocorrência de fraturas patológicas de ossos longos devido à insuficiência renal crónica (Künzel & Joachim, 2010). Ainda não se sabe ao certo se a presença de sinais clínicos como a incontinência urinária, poliúria e polidipsia se devem à afeção renal ou às lesões neurológicas provocadas pela infeção (Jordan *et al.*, 2006a).

4.3. Quadro Clínico Ocular

Este tipo de apresentação clínica ocorre mais frequentemente em animais jovens que foram infetados *in utero*, visto que nessa altura os esporos conseguem infetar o cristalino pois a sua cápsula é fina ou mesmo ausente (Wolfer *et al.*, 1993) e ocorre principalmente de uma forma unilateral, apesar de já ter sido descrita a ocorrência de alterações bilaterais (Harcourt-Brown & Holloway, 2003). As alterações oculares decorrentes de uma infeção por *E. cuniculi* são frequentemente denominadas de uveíte facoclástica, no entanto existem várias alterações que podem ser observadas tais como cataratas, hipópion e uveíte (Künzel & Fisher, 2018). A uveíte facoclástica propriamente dita (Fig. 4) consiste numa infiltração do cristalino por várias células inflamatórias (granulócitos, macrófagos, células gigantes) levando à rutura da cápsula da lente e expulsão do seu material para a câmara anterior do olho (Donnelly, 2003). Normalmente, animais com sinais oculares não apresentam outros sinais clínicos e não chega a haver uma perda de visão significativa que interfira com a qualidade de vida do animal (Felchle & Sigler, 2002).

Figura 4- Coelho com uveíte facoclástica (Fotografia cedida por Clínica Veterinària Exòtics, 2018)



5. Diagnósticos Diferenciais

5.1. Quadro Clínico Neurológico

A síndrome vestibular periférica provocada por uma otite média e/ou interna normalmente de origem bacteriana (*Pasteurella multocida*) pode provocar sinais clínicos semelhantes àqueles observados em animais infetados por *E. cuniculi* (Gruber, Pakozdy, Weissenböck, Csokai & Künzel, 2009). No entanto, em animais com otite média e/ou interna provocada por *Pasteurella multocida* é frequente a presença adicional de sinais clínicos de afeção do aparelho respiratório superior (espirros, corrimento nasal, estridor) e até mesmo pneumonia, o que não acontece em animais infetados por *E. cuniculi* (Künzel & Joachim, 2010). Para além disso, a síndrome vestibular decorrente de uma otite média e/ou interna é periférica, e no caso dos animais infetados por *E. cuniculi* essa síndrome vestibular é central e pode ser acompanhada de outros sinais neurológicos tais como alteração do estado mental e défices ao nível dos reflexos posturais e cranianos (Künzel & Fisher, 2018). No entanto esta diferenciação é muitas vezes difícil de ser detetada apenas recorrendo ao exame neurológico pois frequentemente a síndrome vestibular central provocada pela infeção por *E. cuniculi* apresenta apenas sinais iguais àqueles observados numa síndrome vestibular periférica (Künzel *et al.*, 2008). A diferenciação total só poderá ser realizada recorrendo à radiografia ou até mesmo TAC (Künzel & Fisher, 2018).

A infecção do canal auditivo externo do coelho pelo ácaro *Psoroptes cuniculi* provoca uma otite externa sendo que, frequentemente, estes animais podem apresentar *head tilt* reflexo transitório que pode ser confundido com síndrome vestibular (Künzel & Joachim, 2010).

Infeções bacterianas ou virais do sistema nervoso central também podem provocar sinais clínicos semelhantes àqueles observados em animais infetados por *E. cuniculi*. De entre os vírus que podem infetar o sistema nervoso central dos coelhos estão descritos *Herpes simplex*, *Bornavirus* e o vírus da raiva, embora a sua prevalência em coelhos seja muito baixa (Metzler, Ehrensperger & Wyler, 1978; Weissenböck, Hainfellner, Berger, Kasper & Budka, 1997; Karp, Ball, Scott & Walcoff, 1999; Grest, Albicker, Hoelzle, Wild & Pospischil, 2002; Müller *et al.*, 2009). Já a infecção bacteriana do sistema nervoso central leva à formação de uma meningoencefalite purulenta e pode também provocar sinais neurológicos em coelhos (Gruber *et al.*, 2009).

No que diz respeito aos parasitas que podem afetar o sistema nervoso central dos coelhos, estão descritos a *Toxoplasma gondii* e larva *migrans cerebrealis* de nematodes como *Toxocara* spp. e *Baylisascaris procyonis* (Künzel & Joachim, 2010), sendo este último particularmente prevalente em coelhos nos Estados Unidos da América (Deeb & Giacomo, 1994). Embora a infecção por *T. gondii* seja um dos diagnósticos diferenciais de sinais clínicos neurológicos em coelho, os coelhos infetados por este parasita raramente apresentam sinais clínicos e quando apresentam costumam ser pouco específicos tais como letargia, inapetência e febre (Dubey, Brown, Carpenter, & Moore, 1992). Ambos os parasitas provocam meningoencefalite granulomatosa e podem ser distinguidos através de serologia, morfologia tecidular e análise imuno-histoquímica (Dubey *et al.*, 1992; Leland, Hubbard & Dubey, 1992).

Outros possíveis diagnósticos diferenciais de sinais clínicos neurológicos em coelho são neoplasias e traumatismos ao nível do sistema nervoso. A neoplasia mais frequentemente observada em coelhos com impacto neurológico é o linfoma (Gruber *et al.*, 2009). No que diz respeito aos traumatismos o mais frequente é a ocorrência de fraturas ou luxações ao nível da coluna vertebral embora também os traumatismos cranianos possam eventualmente provocar lesão neurológica (Künzel & Joachim, 2010).

Afeções cardiovasculares, alterações metabólicas com deficiência em vitaminas e minerais, intoxicações e lesões degenerativas do sistema nervoso central também devem ser consideradas como possíveis diagnósticos diferenciais de sinais clínicos neurológicos em coelho (Gruber *et al.*, 2009).

5.2. Quadro Clínico Urinário

O principal diagnóstico diferencial de insuficiência renal em coelhos, para além da infecção por *E. cuniculi*, é a nefrolitíase sendo facilmente diagnosticada por radiografia (Künzel & Joachim, 2010). Outros diagnósticos diferenciais, embora menos frequentes, são neoplasia renal, amiloidose (Reusch, Murray, Papasouliotis & Redrobe, 2009), glomerulonefrite ou ainda pielonefrite (Melillo, 2007).

5.3. Quadro Clínico ocular

O principal diagnóstico diferencial de uveíte facoclástica em coelho, para além da infecção por *E. cuniculi*, é a uveíte bacteriana geralmente provocada por uma dispersão sanguínea de *Pasteurella multocida*. Outros diagnósticos diferenciais a considerar são uveíte secundária a queratite, trauma ou perfuração por corpo estranho (Künzel & Joachim, 2010).

6. Diagnóstico

Ao longo dos anos, com o constante progresso da medicina, têm surgido novas e melhores técnicas de diagnóstico de microsporídeos. Antigamente, o diagnóstico era baseado na identificação do agente por microscopia eletrónica o que se tornava um procedimento caro e trabalhoso. Atualmente, com o aparecimento de técnicas de fixação e coloração pode-se chegar a um diagnóstico de forma mais simples, utilizando apenas um microscópio convencional. Também o desenvolvimento de técnicas serológicas e moleculares permitiu que seja possível fazer mais facilmente a identificação da espécie causadora da infeção (Mathis *et al.*, 2005).

6.1. Diagnóstico *antemortem*

Um rápido e correto diagnóstico definitivo *antemortem* é extremamente importante para a aplicação da terapia específica adequada, determinação do prognóstico e avaliação do risco zoonótico de cada caso (Jeklova *et al.*, 2010).

6.1.1. Exame físico

O diagnóstico baseado no exame físico do animal sem a utilização de métodos auxiliares de diagnóstico é muitas vezes problemático, pois a maior parte dos animais apresenta uma infecção crónica assintomática (Harcourt-Brown, 2004). Para além disso, a presença de sinais clínicos neurológicos, urinários ou oculares pode ser indicativo de uma variedade de outras afeções (Künzel & Joachim, 2010). Assim, para se chegar a um diagnóstico *ante mortem* definitivo deve-se combinar o exame físico, neurológico e oftalmológico com métodos auxiliares de diagnóstico para que se possa descartar outros possíveis diagnósticos diferenciais (Künzel & Fisher, 2018).

6.1.2. Detecção de esporos na urina

A excreção de esporos pela urina inicia-se cerca de 3 a 5 semanas após a seroconversão e vai diminuindo com o passar do tempo até que passa a ocorrer apenas de forma intermitente. A deteção de esporos na urina é um método barato e fácil de executar, no entanto, devido à excreção intermitente de esporos, é um método que apresenta uma baixa sensibilidade pois um resultado negativo não é suficiente para excluir uma possível infecção por *E. cuniculi* (Künzel & Joachim, 2010). Visto os esporos de microsporídeos apresentarem dimensões reduzidas, é necessário a utilização de certos métodos de coloração tais como *Calcofluor white M2R* ou *acid fast trichrome* (AFT) para a sua observação em microscópio ótico, no entanto não é possível fazer a distinção entre espécies de microsporídeos e os esporos podem ser confundidos com bactérias ou leveduras (Jordan *et al.*, 2006a). Para além disso, a presença de cristais na urina pode dificultar a observação dos esporos pelo que é útil a acidificação da urina (Harcourt-Brown, 2004).

A deteção de esporos na urina suporta o diagnóstico em animais que apresentem sinais clínicos compatíveis com infecção por *E. cuniculi*, no entanto animais assintomáticos também podem excretar esporos (Weese & Fulford, 2010).

6.1.3. Detecção de esporos em tecidos

Este método pode ser realizado tanto *ante mortem* através de biópsia de órgãos e tecidos ou *post mortem* através da colheita de amostras durante a necrópsia. A biópsia renal pode revelar a presença de esporos a partir das 5 semanas após a seroconversão ou

9 semanas após a infeção (Jordan *et al.*, 2006a). A deteção de esporos no cérebro pode ser feita a partir das 8 semanas após a seroconversão (Künzel & Joachim, 2010). Em animais que apresentem sinais oculares (uveíte facoclástica) os esporos podem ser detetados no córtex liquefeito do cristalino. Devem ser utilizadas as mesmas técnicas de coloração descritas na “Deteção de esporos na urina” (Jordan *et al.*, 2006a).

6.1.4. Eletroforese serológica (proteinograma)

Normalmente numa infeção por *E. cuniculi* existem algumas alterações características no proteinograma que podem ser sugestivas dessa infeção, tais como a diminuição do rácio albumina/globulina, diminuição das α 2-globulinas e aumento das γ -globulinas. É uma técnica particularmente útil como método de avaliação da resposta da infeção ao tratamento aplicado e ajuda a compreender se os sinais clínicos apresentados pelo animal se devem de facto à infeção por *E. cuniculi* ou se se deverá procurar uma outra causa (Di Giuseppe, Romano, Gelli, Scopitteri & Congiu, 2016).

6.1.5. Rácio proteína creatinina urinária (UPC)

A presença de proteinúria persistente com sedimento inativo é um sinal patognomónico de lesão renal tubular ou glomerular pelo que a determinação deste rácio pode ser utilizada como método de avaliação de progressão da doença e auxilia à determinação do prognóstico em animais infetados por *E. cuniculi* que apresentem lesão renal (Reusch *et al.*, 2009).

6.1.6. Análise do Líquido Cefalorraquidiano (LCR)

A presença de pleocitose linfomonocítica e um aumento da concentração de proteínas totais no líquido cefalorraquidiano, são alterações características de uma infeção por *E. cuniculi* em coelhos. No entanto, deve-se ter em conta que encefalites virais, por protozoários ou imunomediadas podem induzir alterações semelhantes (Künzel & Joachim, 2010). Para além disso, é uma técnica que acarreta grandes riscos pelo que ainda é considerado um método inapropriado de diagnóstico *in vivo* de *E. cuniculi* (Künzel & Fisher, 2018).

6.1.7. Serologia

A serologia é atualmente considerada o método de diagnóstico mais sensível numa fase inicial de infeção e o mais utilizado, principalmente devido à boa correlação que existe entre resultado serológico e histopatológico. Os métodos serológicos mais frequentemente utilizados para a deteção de anticorpos contra *E. cuniculi* são a imunofluorescência direta (IFAT), ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e imuno-ensaio de carbono (CIA) (Künzel & Fisher, 2018). Na Imunofluorescência direta, um título de anticorpos inferior a 4 é considerado negativo, entre 40 e 320 positivo baixo, entre 640 e 2560 positivo moderado e maior que 5120 positivo elevado (Csokai *et al.*, 2009b). Recentemente também se têm testado novas técnicas serológicas para diagnóstico de infeção por *E. cuniculi* tais como Western blot (Desoubeaux, Pantin, Peschke, Joachim & Cray, 2017) e Imunoaglutinação direta (Jordan, Zajac, Snowden & Lindsay, 2006b), sendo que ambos apresentaram valores de sensibilidade e especificidade elevados.

Deve-se ter sempre em conta que a deteção de anticorpos contra *E. cuniculi* em circulação apenas indica que houve uma exposição ao agente, não confirmando que os sinais clínicos apresentados pelo animal se devem de facto a essa infeção (Jeklova *et al.*, 2010). Embora diversos estudos mostrem existir uma boa correlação entre título de anticorpos circulantes e alterações histopatológicas (Künzel & Joachim, 2010), não parece existir uma relação direta entre o título de anticorpos circulantes e a presença de sinais clínicos, pelo que mesmo animais assintomáticos podem apresentar títulos de anticorpos médios a elevados (Harcourt-Brown, 2004). Mesmo assim, está demonstrado que os títulos de anticorpos circulantes tendem a ser mais elevados numa fase inicial da infeção e diminuem após a aplicação da terapêutica específica adequada (Rich, 2010). Uma titulação de anticorpos negativa normalmente exclui a infeção por *E. cuniculi*, no entanto numa fase inicial de infeção por vezes pode haver a deteção de esporos sem a presença de anticorpos específicos em circulação. Esta situação torna-se mais frequente em animais infetados em idades jovens ou imunodeprimidos (Csokai *et al.*, 2009b).

A seroconversão inicia-se por volta das 3 semanas após a infeção pelo que os anticorpos anti-*E. cuniculi* podem ser detetados antes de haverem alterações histopatológicas evidentes e antes de se conseguir observar os esporos em órgãos ou na urina (Künzel & Fisher, 2018).

A detecção apenas de IgG em circulação contra *E. cuniculi* não permite fazer a distinção entre animais portadores seropositivos e animais com quadro clínico devido à infecção, pelo que recentemente têm sido efetuados estudos para perceber a utilidade da detecção combinada de IgG e IgM para tentar distinguir estas duas situações. A detecção apenas de IgM parece indicar a presença de uma infecção recente aguda, a detecção apenas de IgG parece indicar a presença de uma infecção crónica ou latente e a detecção de IgM e IgG em conjunto parece indicar a presença de uma infecção aguda, reativada ou uma reinfeção (Jeklova *et al.*, 2010). No entanto, mais estudos têm de ser feitos pois já foi detetada a presença de IgM em animais com infecção latente e para além disso, normalmente os animais só apresentam sinais clínicos algumas semanas após a seroconversão pelo que o título de IgM já pode ter diminuído para zero (Künzel & Fisher, 2018).

Tem que se ter sempre em conta que há a passagem da imunidade passiva pela mãe, pelo que os anticorpos maternos podem ser detetados até às 4 semanas de vida e que a produção de anticorpos só é possível em animais a partir das 8 a 10 semanas de vida (Künzel & Joachim, 2010).

6.1.8. *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Consiste na detecção de ADN de *E. cuniculi* nas secreções ou fluidos corporais do indivíduo e é atualmente considerado o método mais indicado para o diagnóstico de encefalitozoonose em seres-humanos (Künzel & Fisher, 2018), principalmente devido à capacidade de identificação do género e espécie causador da infecção (Deplazes, Mathis, Baumgartner, Tanner & Weber, 1996).

Muitas vezes é necessário fazer um pré-tratamento da amostra com azoto líquido, digestão com proteinase K ou ainda através de métodos mecânicos de forma a romper a parede espessa dos esporos para tornar o ADN disponível (Csokai *et al.*, 2009b).

Atualmente considera-se o PCR de material liquefeito do cristalino como um método de diagnóstico apropriado em animais que apresentem uveíte facoclástica, no entanto o PCR de fluidos corporais parece ser um método com pouca utilidade clínica pois a detecção de ADN de *E. cuniculi* não indica propriamente a presença de doença e até animais com doença clínica podem ter um resultado de PCR negativo. Também a utilização do PCR em amostras de tecidos não apresenta grandes vantagens visto ser uma

técnica que apresenta uma sensibilidade inferior à detecção de esporos em histopatologia utilizando técnicas de coloração específicas (Csokai *et al.*, 2009b).

A utilização de técnicas como o *Nested PCR* permite uma sensibilidade superior de diagnóstico, no entanto ainda terão de ser feitos mais estudos acerca da sua utilidade clínica em coelhos (Csokai *et al.*, 2009b).

6.2. Diagnóstico *post mortem*

A detecção de esporos recorrendo à histopatologia com a utilização de métodos de coloração específicos consiste no método de diagnóstico *post mortem* mais sensível. Quando se pretende utilizar técnicas moleculares para a pesquisa de ADN de *E. cuniculi* em amostras de tecidos é recomendado a utilização do *Nested PCR* em amostras de cérebro, pois é o órgão que apresenta uma maior concentração de esporos e assim obtém-se a maior sensibilidade e especificidade possível (Csokai *et al.*, 2009a).

As primeiras alterações histopatológicas ocorrem ao nível do rim, fígado e pulmão sendo que apenas 3 meses após a infeção é que ocorre lesão ao nível do cérebro. Eventualmente podem também existir pequenas alterações ao nível do coração (Künzel & Joachim, 2010).

É importante referir que o diagnóstico histopatológico apresenta algumas limitações pois não parece existir correlação entre as alterações histopatológicas observadas em necrópsia e os sinais clínicos apresentados pelo animal em vida (Valencakova, Balent, Petrovova, Novotny & Luptakova, 2008)

6.2.1. Alterações neurológicas

Raramente se conseguem detetar alterações macroscópicas ao nível do sistema nervoso de animais infetados por *E. cuniculi* (Jordan *et al.*, 2006a).

A nível microscópico pode ser detetada a presença de meningoencefalite linfoplasmocítica granulomatosa com infiltração perivascular e eventualmente mineralização multifocal (Jordan *et al.*, 2006a).

Estas alterações histopatológicas ocorrem principalmente ao nível do encéfalo, no entanto também podem existir lesões inflamatórias ao nível do tronco cerebral, medula espinal e cerebelo (Gruber *et al.*, 2009).

6.2.2. Alterações renais

Ao exame macroscópico podem ser detetadas alterações histopatológicas características de doença crónica, tais como a presença de lesões cicatriciais deprimidas, fibrose glomerular, atrofia renal e a presença de manchas irregulares cinzento-esbranquiçadas (Jordan *et al.*, 2006a).

No exame microscópico pode ser detetada a presença de nefrite intersticial granulomatosa com infiltração de macrófagos e degenerescência dos túbulos renais (Jordan *et al.*, 2006a).

6.2.3. Alterações oculares

Macroscopicamente pode ser observada a presença de uma massa esbranquiçada na câmara anterior do olho, resultante da rutura do cristalino (Donnelly, 2003).

Microscopicamente pode observar-se a presença de uma uveíte granulomatosa local com a inflamação a ocorrer principalmente no local de rutura do cristalino (Jordan *et al.*, 2006a).

6.2.4. Outras alterações

Eventualmente, pode ser detetado em exame histopatológico a presença de pneumonia intersticial granulomatosa, hepatite focal intersticial granulomatosa e pequenas alterações ao nível do coração (Keeble & Shaw, 2006).

7. Tratamento

Atualmente ainda não existe um protocolo terapêutico reconhecido e uniformizado para o tratamento de uma infeção por *E. cuniculi* em coelhos (Künzel & Joachim, 2010), no entanto vários estudos têm sido efetuados no sentido de determinar quais os fármacos que são eficazes tanto na eliminação do parasita como na resolução da inflamação e dos sinais clínicos provocados (Künzel & Fisher, 2018). A extrapolação a partir de outras espécies e a experimentação *in vitro* da suscetibilidade de *E. cuniculi* a diversos fármacos têm contribuído para essa compreensão (Harcourt-Brown, 2004).

Está demonstrado que é possível haver uma recuperação espontânea do animal sem a aplicação de qualquer tratamento (Harcourt-Brown & Holloway, 2003). Para além disso existem casos de animais com doença neurológica ou renal grave que não respondem a

qualquer tratamento (Valencakova *et al.*, 2008). Assim, torna-se difícil determinar quais os fármacos eficazes para o tratamento de uma infecção por *E. cuniculi* em coelhos (Harcourt-Brown, 2004). A avaliação do sucesso terapêutico vai ser baseada na recuperação dos sinais clínicos por parte do animal após a aplicação do tratamento (Künzel & Fisher, 2018) e da forma como essa recuperação é percebida pelos tutores dos animais (Harcourt-Brown, 2004).

Na escolha do tratamento adequado, deve-se ter em conta quais são os sinais clínicos apresentados pelo animal, pois o tratamento varia muito caso a lesão seja neurológica, renal ou ocular ou uma combinação destas (Künzel & Joachim, 2010).

No caso do tratamento de animais que apresentem sinais neurológicos deve ser efetuado um tratamento etiológico (parasitológico) para combater a manutenção e dispersão do agente, controlo da reação inflamatória que se desenvolve ao nível do sistema nervoso, controlo de possíveis doenças concomitantes e controlo dos sinais clínicos, sendo a convulsão o mais evidente (Deeb & Carpenter, 2004).

No que diz respeito ao tratamento parasitológico, está demonstrado que alguns fármacos como o itraconazol, toltrazuril, metronidazol, ronidazol e ganciclovir são totalmente ineficazes (Franssen, Lumeij & Van Knapen, 1995). Por outro lado, a fumagilina, esparfloxacina, oxitetraciclina e benzimidazóis foram demonstrados como sendo os mais eficazes (Waller, 1979; Shaddock, 1980; Beauvais, Sarfati, Challier & Derouin, 1994; Franssen *et al.*, 1995). Alguns autores defendem que nenhum fármaco consegue eliminar totalmente *E. cuniculi* dos tecidos infetados (Harcourt-Brown, 2004).

O albendazol é o fármaco de eleição para o tratamento de encefalitozoonose em seres humanos e era um dos fármacos mais utilizados para tratar coelhos com a mesma condição, principalmente pelo facto de ser bastante eficaz na eliminação do parasita principalmente a nível renal sem provocar efeitos citopáticos. Para além disso também apresenta uma boa absorção quando administrado por via oral (Harcourt-Brown, 2004). No entanto, apresenta propriedades embriotóxicas e teratogénicas em coelhos pelo que atualmente se tem preferido a utilização de um fármaco da mesma família, o febendazol (Künzel & Joachim, 2010). Foi demonstrado que o febendazol tem ação tanto terapêutica como profilática, sendo também utilizado em desparasitações de rotina (Suter, Müller-Doblies, Hati & Deplazes, 2001), embora a sua absorção quando administrado por via

oral seja inferior à do albendazol (Harcourt-Brown, 2004). Desta forma, o febendazol (20mg/kg, PO, SID, durante um período de 28 dias) é considerado atualmente o fármaco de eleição para o tratamento parasitológico de uma infeção por *E. cuniculi* em coelhos (Künzel & Joachim, 2010).

Para controlar a resposta inflamatória decorrente da infeção era recomendada a utilização de corticosteróides, no entanto estes animais deveriam ser cuidadosamente acompanhados pois os efeitos imunodepressores destes fármacos podem facilitar a progressão da infeção devido à inibição da resposta dos linfócitos-T e consequente produção de citocinas, mecanismo considerado essencial para a defesa do hospedeiro contra uma infeção por *E. cuniculi* (Künzel & Joachim, 2010). Estudos recentes determinaram que a utilização de fármacos corticosteróides não contribui para a recuperação do animal (Sieg *et al.*, 2012) provavelmente devido ao facto de as alterações histopatológicas neurológicas e renais provocadas pela resposta inflamatória serem irreversíveis, sendo que a utilização destes fármacos em animais infetados por *E. cuniculi* é atualmente controversa (Künzel & Fisher, 2018).

Em animais que apresentem sinais clínicos neurológicos são muitas vezes utilizados antibióticos para descartar a presença de uma possível otite média e/ou interna (Künzel & Joachim, 2010), sendo a enrofloxacina e a oxitetraciclina os antibióticos mais utilizados em coelhos (Künzel *et al.*, 2008). No entanto, atualmente esta prática está desaconselhada, sendo preferível a obtenção de um diagnóstico definitivo de forma a evitar a utilização desnecessária de antibióticos (Künzel & Fisher, 2018).

Como tratamento sintomático em animais que apresentem convulsões e/ou *rolling* é recomendada a utilização de sedativos benzodiazepínicos tais como diazepam e midazolam (Künzel & Joachim, 2010). Estes animais deverão ainda ser mantidos em ambientes calmos, livres de stress e com água e comida acessíveis (Keeble, 2011).

Recentemente tem sido debatida a importância da fisioterapia para a recuperação de coelhos que apresentem Síndrome Vestibular decorrente de uma infeção por *E. cuniculi*, sendo já considerada como uma prática essencial no protocolo terapêutico para estes animais. Deve ser feita numa superfície antiderrapante durante 10 a 30 minutos várias vezes por dia e consiste principalmente em manter o animal numa posição direita e auxiliar a movimentação em linha reta, corrigindo o posicionamento do animal sempre

que necessário. Está demonstrado que a manutenção de animais que apresentem Síndrome Vestibular em ambientes fechados e sem a possibilidade de se movimentarem pode atrasar, ou até mesmo impedir, a recuperação dos sinais clínicos (Harcourt-Brown, 2002; Künzel & Fisher, 2018).

A maior parte dos coelhos que apresentem uma insuficiência renal crônica marcada decorrente de uma infecção por *E. cuniculi* é submetida a eutanásia devido ao mau prognóstico (Künzel & Joachim, 2010). Para além do tratamento parasitológico, o único tratamento possível para estes animais é sintomático e de suporte, sendo recomendada a hidratação destes animais através de fluidoterapia adequada, com água sempre à disposição e redução do teor de cálcio da dieta, de forma a evitar a mineralização de tecidos moles. Para além disso, é recomendada a utilização de fármacos analgésicos não esteroides, pois é frequente estes animais apresentarem dermatites dolorosas do períneo, devido à incontinência urinária (Harcourt-Brown, 2004).

No que diz respeito ao tratamento da uveíte facoclástica em coelhos infetados por *E. cuniculi*, para além do tratamento parasitológico deve ser ponderada a aplicação de terapêutica médica adicional e eventualmente cirúrgica. Está descrita a administração de oxitetraciclina e dexametasona de forma tópica e sistémica para a resolução da uveíte (Harcourt-Brown, 2004), no entanto alguns autores reportam que a terapêutica tópica apresenta baixa eficácia (Wolfer *et al.*, 1993; Stiles *et al.*, 1997). Normalmente os animais recuperam bem com a terapêutica médica, no entanto a presença de granulomas e cataratas pode persistir (Künzel & Joachim, 2010).

Se a condição for detetada numa fase precoce, está recomendada a facoemulsificação, sendo que quando mais cedo o cristalino for removido após a infecção, melhor será o prognóstico. Quando já existem alterações oculares irreversíveis está recomendada a enucleação como tratamento definitivo (Künzel & Joachim, 2010).

Muitas vezes as alterações histopatológicas decorrentes de uma infecção por *E. cuniculi* são irreversíveis. Desta forma, alguns animais com alterações neurológicas ou renais profundas podem não recuperar totalmente, mesmo após a aplicação do protocolo terapêutico mais adequado (Valencakova *et al.*, 2008).

Outros fármacos têm sido descritos como tendo alguma eficácia no tratamento de encefalitozoonose tais como TNP-470 (Didier, 1997), IFN- γ , terapêutica com anticorpos

específicos (Salát, Jelínek, Chmelař & Kopecký, 2008), resveratrol (Leiro, Cano, Ubeira, Orallo & Sanmartín, 2004) e isotionato de propamidine (Franssen *et al.*, 1995), no entanto a sua utilidade clínica ainda terá de ser estudada.

8. Profilaxia

Os esporos de *E. cuniculi* podem sobreviver até 6 semanas no exterior a uma temperatura de 22°C (Künzel & Fisher, 2018), no entanto são sensíveis a uma variedade de substâncias desinfetantes tais como o etanol 70%, formaldeído 0,3%, peróxido de hidrogénio 1% e hidróxido de sódio 1%, sendo que a sua aplicação durante 30 minutos é suficiente para a inativação desses mesmos esporos (Künzel & Joachim, 2010). Assim, a sua aplicação é recomendada nas superfícies em que o animal infetado entre em contacto, de forma a prevenir uma possível reinfeção ou uma infeção de outros animais ou pessoas. Também a fervura durante 5 minutos ou autoclavagem a 120°C durante 10 minutos, permitem a eliminação total dos esporos (Waller, 1979). Adicionalmente, de forma a prevenir a infeção de outros animais, os coelhos infetados por *E. cuniculi* devem ser isolados (Harcourt-Brown, 2004).

É ainda recomendado o rastreio e tratamento profilático de animais coabitantes de coelhos seropositivos de forma a prevenir o contágio. Todos os animais seropositivos deverão ser acompanhados de forma rotineira pelo Médico Veterinário de forma a avaliar a progressão da infeção. Devem ainda ser mantidas práticas de manejo e higiene adequadas aquando da manipulação destes animais, tendo em conta o carácter zoonótico deste parasita (Keeble & Shaw, 2006). É particularmente importante evitar o contacto direto com a urina de animais infetados pelo que a utilização de luvas de proteção e correta higienização das mãos após a lavagem e desinfeção das instalações destes animais são essenciais (Weese & Fulford, 2010).

O febendazol é atualmente utilizado em desparasitações de rotina em animais exóticos e sabe-se que apresenta alguma atividade profilática nas infeções por *E. cuniculi* (Suter *et al.*, 2001). No entanto, não confere proteção total e existe sempre a possibilidade de o animal ter sido infetado *in utero*.

9. Prognóstico

O prognóstico é muitas vezes baseado na gravidade dos sinais clínicos apresentados pelo animal e evolução dos mesmos após a aplicação da terapêutica adequada. O quadro

clínico neurológico apresenta normalmente um prognóstico razoável (Weese & Fulford, 2010). Quando os sinais clínicos apontam para uma insuficiência renal crônica decorrente de uma infecção por *E. cuniculi* o prognóstico é desfavorável (Csokai, Fuchs-Baumgartinger, Maass & Joachim, 2010), podendo variar de acordo com o grau de uremia e gravidade dos sinais clínicos (Fisher, 2006). Foi demonstrado que animais que continuam a comer de forma adequada e deliberada têm um melhor prognóstico, podendo sobreviver até 2 anos sem intervenção terapêutica (Valencakova *et al.*, 2008).

CAPÍTULO III- IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS FATORES INFLUENCIADORES NO PROGNÓSTICO DE INFECÇÃO POR *Encephalitozoon cuniculi* NO COELHO DOMÉSTICO (*Oryctolagus cuniculus*)- ESTUDO RETROSPECTIVO

1. Objetivos

O presente estudo de Dissertação de mestrado no âmbito da Clínica dos Novos Animais de Companhia, foi realizado recorrendo à base de dados do Centro Veterinário de Exóticos do Porto (CVEP).

Ainda não existe um protocolo terapêutico reconhecido e uniformizado para o tratamento de uma infeção por *E. cuniculi* em coelhos e existe uma grande variação na resposta por parte dos coelhos infetados aos diversos protocolos terapêuticos frequentemente utilizados. Alguns casos podem apresentar uma recuperação total enquanto outros apenas uma recuperação parcial mantendo alguns sinais clínicos e outros ainda não recuperam de todo, mesmo quando aplicados os mesmos protocolos terapêuticos. Para além disso, o próprio período de tempo até à possível recuperação parece variar de caso para caso.

O presente estudo teve como principal objetivo a identificação e avaliação da influência de vários fatores no prognóstico de coelhos infetados por *E. cuniculi* na sua forma clínica. Assim, procurou-se estabelecer uma relação entre os diversos fatores em estudo e a capacidade de recuperação do animal. Estes fatores influenciadores do prognóstico permitem ao médico veterinário prever caso a caso se será mais provável uma não recuperação, uma recuperação parcial ou total do animal infetado, bem como o tempo necessário para essa recuperação, de forma a gerir as expectativas dos tutores dos animais em causa e determinar qual o protocolo terapêutico que melhor se adequará a cada caso em particular.

2. Material e Métodos

2.1. Desenho do estudo e amostragem

Este estudo retrospectivo unicêntrico de série de casos teve uma amostra constituída por um total de 111 coelhos (N=111) apresentando sinais clínicos compatíveis com uma infeção por *E. cuniculi* na sua forma clínica, aos quais foi efetuado um

diagnóstico definitivo ou descartados os principais diagnósticos diferenciais. Dentro da amostra, 73 coelhos são machos e 38 são fêmeas e apresentam uma idade compreendida entre 1 mês e os 12 anos de idade (média (\bar{X}) \pm desvio padrão (σ) = 3,06 \pm 2,58 anos). Todos eles são/foram pacientes no CVEP, sendo que a sua história clínica foi obtida através da análise da base de dados informática da própria clínica.

Para cada animal foram registadas diversas variáveis de interesse, as quais foram organizadas em tabela (Anexo I) de forma a facilitar a sua observação, interpretação e análise estatística.

2.1.1. Critérios de inclusão

Para este estudo foram considerados todos os coelhos com diagnóstico definitivo de infeção por *E. cuniculi* com base na história clínica, sinais clínicos e métodos auxiliares de diagnóstico tais como serologia, proteinograma ou PCR. Foram ainda incluídos coelhos em que existisse uma forte suspeita de uma infeção por *E. cuniculi* tendo em conta os sinais clínicos e a história clínica dos mesmos e após serem descartados os principais diagnósticos diferenciais (otite média e/ou interna) recorrendo principalmente ao raio x de crânio e ao próprio exame clínico dos animais.

2.1.2. Critérios de exclusão

Foram excluídos deste estudo todos os coelhos com sinais clínicos compatíveis com uma infeção por *E. cuniculi*, mas sem que houvesse um diagnóstico definitivo e em que os principais diagnósticos diferenciais (otite média e/ou interna) não tenham sido descartados. Para além disso, foram ainda excluídos casos em que as informações relativas ao acompanhamento do animal e própria história clínica fossem considerados insuficientes.

2.2. Colheita de dados

A partir da base de dados informática do CVEP foi obtida toda a história clínica de cada animal disponível até à data de 31 de Março de 2018, de forma a obter a informação mais atualizada possível, e registadas as seguintes variáveis: idade no momento do diagnóstico, sexo, quadro clínico, sinais clínicos, doenças concomitantes, ocorrência de recidiva, número de recidivas, tipo de resposta ao tratamento, tipo de

resposta ao tratamento na recidiva (se presente), presença de sequelas após tratamento, desfecho e *compliance*.

2.2.1. Variáveis

2.2.1.1. Idade no momento do Diagnóstico

De forma a facilitar a interpretação da influência da idade na capacidade de recuperação do animal, foram criadas duas categorias sendo que os animais foram divididos em 2 grupos etários, menor que 3 anos e maior ou igual a 3 anos de idade no momento do diagnóstico. Esta divisão foi efetuada a partir dos 3 anos de idade no momento do diagnóstico, por ser a mediana de idades da amostra em estudo.

2.2.1.2. Quadro clínico

Os animais foram agrupados consoante o quadro clínico apresentado (Neurológico, Renal ou Ocular). No total, 84 animais apresentaram apenas um quadro clínico, 22 animais apresentaram dois quadros clínicos em conjunto e cinco animais apresentaram os três quadros clínicos simultaneamente.

2.2.1.3. Sinais clínicos

Foram registados todos os sinais clínicos apresentados por cada animal, os quais se enumeram *head tilt*, nistagmus, *rolling*, *circling*, convulsões, cegueira, descoordenação, parésia dos membros posteriores, incontinência urinária, dermatite do períneo, desidratação, hematúria, disúria, uveíte facoclástica, úlcera da córnea, catarata, conjuntivite, blefarospasmo, hifema, deformação do globo ocular, anorexia, apatia e hipotermia.

2.2.1.4. Doenças concomitantes

Os animais foram classificados como apresentando ou não doenças concomitantes, as quais se enumeraram como Doença Dentária Adquirida, Hipomotilidade Gastrointestinal, Infecção Respiratória Superior, Coccidiose Intestinal, Tumor Testicular e Sarna Sarcótica.

2.2.1.5. Recidiva

Foi registada a ocorrência, ou não, de recidiva e caso tenha ocorrido, o número de recidivas.

2.2.1.6. *Compliance*

Foi avaliada a *compliance* dos donos face ao protocolo terapêutico recomendado pelo Médico Veterinário com base na informação presente na base de dados informática da clínica como sendo positiva ou negativa.

2.2.1.7. Desfecho

Os animais foram classificados em 2 grupos tendo em conta um desfecho positivo ou negativo. O desfecho foi considerado positivo sempre que o animal recuperou total ou parcialmente mantendo qualidade de vida após o tratamento. Pelo contrário, o desfecho foi considerado negativo caso o animal não tenha recuperado com o tratamento, sendo que acabou por morrer, ser submetido a eutanásia ou ainda tenha permanecido vivo por tempo desconhecido, mas sem qualidade de vida.

2.2.1.8. Presença de sequelas

Os animais que tenham tido um desfecho considerado positivo, foram ainda divididos em dois grupos caso tenham permanecido ou não com sequelas, mantendo de qualquer forma a qualidade de vida. Os animais incluídos no grupo com desfecho positivo, mas com sequelas, foram principalmente animais que não recuperaram totalmente do *head tilt* mas que mantiveram qualidade de vida, ou animais em que a lesão ocular de uveíte facoclástica tenha regredido mas não tenha desaparecido totalmente.

2.3. Análise estatística

De forma a facilitar a análise estatística, os dados foram inseridos no programa Microsoft Office Excel 2010® de forma a criar uma tabela em que cada linha representa um caso de *E. cuniculi* e cada coluna uma das variáveis em estudo. Para a análise estatística propriamente dita os dados foram posteriormente processados recorrendo ao programa R i386 3.4.4.© com a extensão Rcmdr (R commander).

A distribuição da variável idade ao diagnóstico foi apresentada sob a forma de média, mediana, mínimo e máximo. Após a distribuição em grupos etários foi ainda

determinada a frequência absoluta (número) e relativa (percentagem) de cada grupo. A distribuição das variáveis sexo, quadro clínico, sinais clínicos, doenças concomitantes, recidiva, *compliance*, desfecho e presença de sequelas foram apresentadas sob a forma de frequências absolutas (número) e relativas (percentagem). No que diz respeito à variável recidiva foi ainda apresentado o valor mínimo e máximo do número de recidivas.

Neste estudo foi utilizado o teste de qui-quadrado de Pearson de forma a analisar tabelas de contingência e determinar se existe ou não relação entre as variáveis em estudo e a capacidade de recuperação do animal infetado por *E. cuniculi*. Este teste foi escolhido pois permite determinar se existe ou não relação de dependência entre variáveis categóricas, sendo o teste ideal para os objetivos deste estudo. Foram considerados estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$. Sempre que existiu uma frequência esperada inferior a 5, optou-se pela utilização do teste exato de Fisher pois o teste de qui-quadrado de Pearson pressupõe uma frequência esperada de 5 ou superior.

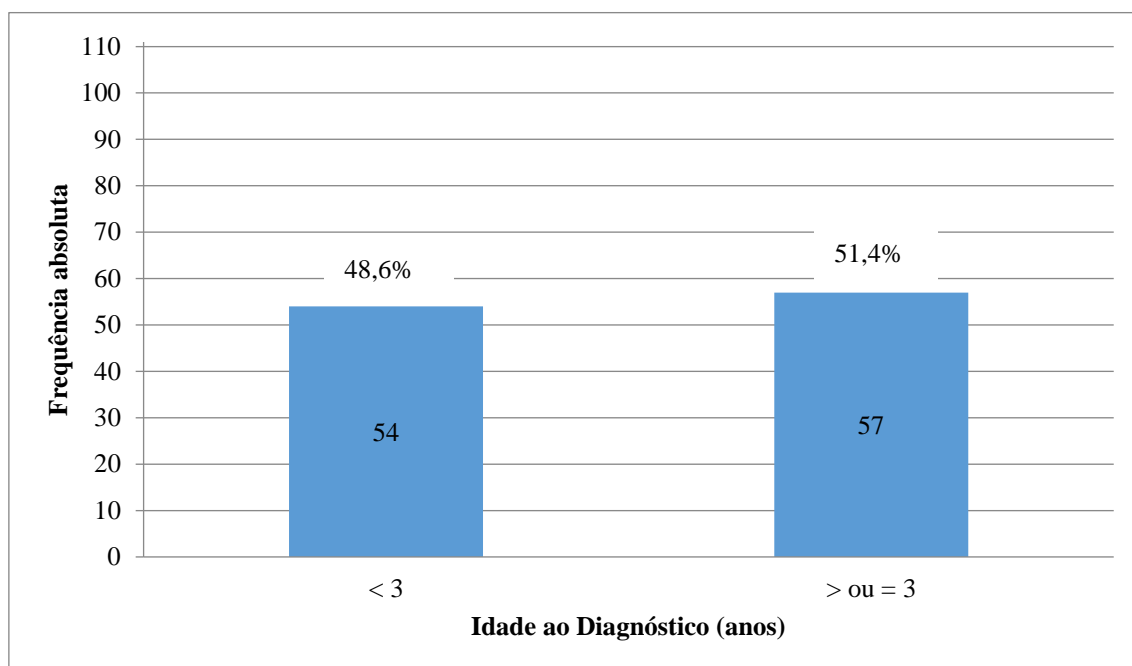
3. Resultados

De seguida serão apresentados os resultados para cada uma das variáveis em estudo descritas anteriormente.

3.1. Idade no momento do diagnóstico

A idade no momento do diagnóstico dos coelhos incluídos neste estudo variou entre 1 mês (mínimo) a 12 anos (máximo), sendo a média 3,063 anos e a mediana 3 anos de idade ao diagnóstico. De forma a facilitar a interpretação da influência da variável Idade no momento do Diagnóstico no prognóstico, foi efetuada a distribuição dos animais em dois grupos etários diferentes, um constituído por animais com menos de 3 anos e o outro constituído por animais com 3 ou mais anos de idade no momento do diagnóstico. No total, 54 dos 111 animais em estudo apresentaram uma idade ao diagnóstico inferior aos 3 anos de idade, o que corresponde a cerca de 48,6% da amostra. Os restantes 57 animais apresentaram uma idade ao diagnóstico igual ou superior aos 3 anos de idade, o que corresponde a cerca de 51,4% da amostra (Gráfico 3).

Gráfico 3- Frequências absolutas e relativas da variável Idade no momento do Diagnóstico



Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a idade ao diagnóstico e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 3.966$, $p = 0.04643$. De acordo com a tabela 1, 59,3% ($n=32$) dos animais com uma idade ao diagnóstico inferior aos 3 anos apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento, sendo que os restantes 40,7% ($n=22$) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento. No que diz respeito aos animais com uma idade ao diagnóstico igual ou superior aos 3 anos apenas 40,4% ($n=23$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento e 59,6% ($n=34$) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento.

Tabela 1- Tabela de contingência das variáveis Idade no momento do Diagnóstico e Desfecho

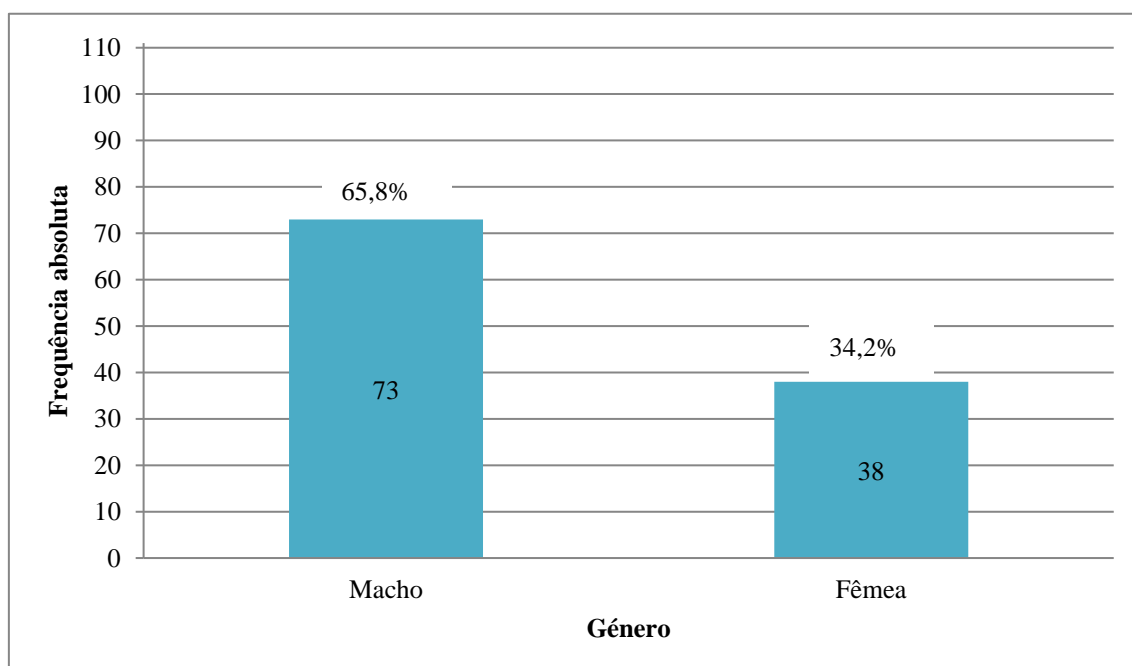
Idade ao Diagnóstico	Desfecho	
	Negativo	Positivo
< 3 anos	22 (40,7%)	32 (59,3%)
> ou = 3 anos	34 (59,6%)	23 (40,4%)

No entanto, não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a idade no momento do diagnóstico e a presença de sequelas após o tratamento, $X^2(1, N=55) = 1.395$, $p = 0.2376$.

3.2.Sexo

Quanto ao sexo, 65,8% (n=73) dos coelhos da amostra eram machos e 34,2% (n=38) dos coelhos da amostra eram fêmeas (Gráfico 4).

Gráfico 4- Frequências absolutas e relativas da variável Sexo



Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a variável Sexo e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 0.10996$, $p = 0.7402$, nem

entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $X^2(1, N=55) = 0.22324$; $p = 0.6366$.

3.3. Quadro Clínico

O quadro clínico mais observado nos animais desta amostra foi o neurológico, sendo que 89,2% ($n=99$) dos animais apresentaram este quadro clínico, 20,7% ($n=23$) apresentaram um quadro renal e 18,9% ($n=21$) apresentaram um quadro ocular. No total, 75,7% ($n=84$) dos animais apresentaram apenas um quadro clínico, sendo que 72 destes animais (85,7%) apresentaram apenas um quadro neurológico e os restantes 12 (14,3%) apresentaram apenas um quadro ocular. Nenhum animal apresentou apenas um quadro renal. Em relação ao total, 19,8% ($n=22$) dos animais da amostra apresentaram dois quadros clínicos em conjunto, sendo que 18 destes animais (81,8%) apresentaram um quadro clínico neurológico e renal em conjunto e os restantes 4 (18,2%) apresentaram um quadro clínico neurológico e ocular em conjunto. Apenas 4,5% ($n=5$) dos animais da amostra apresentaram os 3 quadros clínicos simultaneamente.

3.3.1. Quadro Clínico Neurológico

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de um quadro clínico neurológico e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 1.577$, $p = 0.2092$, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.2389$ no teste exato de Fisher.

3.3.2. Quadro Clínico Renal

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de um quadro clínico renal e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 12.002$, $p = 0.0005315$. De acordo com a tabela 2, 82,6% ($n=19$) dos animais com um quadro clínico renal apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento, sendo que os restantes 17,4% ($n=4$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento. No que diz respeito aos animais que apresentaram outro quadro clínico que não renal 42% ($n=37$) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento e 58% ($n=51$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento.

Tabela 2- Tabela de contingência das variáveis Quadro Clínico Renal e Desfecho

Quadro Clínico Renal	Desfecho	
	Negativo	Positivo
Não	37 (42%)	51 (58%)
Sim	19 (82,6%)	4 (17,4%)

No entanto, não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de um quadro clínico renal e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.1136$ no teste exato de Fisher.

3.3.3. Quadro Clínico Ocular

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de um quadro clínico ocular e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2 (1, N=111) = 0.038613$, $p = 0.8442$, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.1385$ no teste exato de Fisher.

3.3.4. Vários Quadros Clínicos em Conjunto

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença vários quadros clínicos em conjunto e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2 (1, N=111) = 13.743$, $p = 0.0002096$. De acordo com a tabela 3, 81,5% ($n=22$) dos animais com vários quadros clínicos em conjunto apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento, sendo que os restantes 18,5% ($n=5$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento. No que diz respeito aos animais que apresentaram apenas um quadro clínico 40,5% ($n=34$) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento e 59,5% ($n=50$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento.

Tabela 3- Tabela de contingência das variáveis Vários Quadros Clínicos em Conjunto e Desfecho

Vários Quadros Clínicos em Conjunto	Desfecho	
	Negativo	Positivo
Não	34 (40,5%)	50 (59,4%)
Sim	22 (81,5%)	5 (18,5%)

No entanto, não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de vários quadros clínicos em conjunto e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.3273$ no teste exato de Fisher.

3.4.Sinais Clínicos

O sinal clínico mais frequentemente observado foi *head tilt* sendo que 81,1% (n=90) dos animais desta amostra apresentaram este sinal clínico. No total, foram assinaladas as seguintes percentagens dos respetivos sinais clínicos por ordem decrescente 57,7% (n=64) apresentaram anorexia, 41,4% (n=46) *rolling*, 37,8% (n=42) apatia, 17,1% (n=19) uveíte facoclástica, 11,7% (n=13) incontinência urinária, 10,8% (n=12) nistagmus, 7,2% (n=8) desidratação, 5,4% (n=6) *circling*, 5,4% (n=6) parésia dos membros posteriores, 4,5% (n=5) dermatite do períneo, 2,7% (n=3) cataratas, 2,7% (n=3) descoordenação, 1,8% (n=2) blefaroespasmo, 1,8% (n=2) conjuntivite, 1,8% (n=2) cegueira, 1,8% (n=2) hifema, 1,8% (n=2) convulsões, 1,8% (n=2) hematúria, 0,9% (n=1) úlcera de córnea, 0,9% (n=1) hipotermia, 0,9% (n=1) deformação do globo ocular e 0,9% (n=1) disúria.

3.4.1. *Head tilt*

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de *head tilt* e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 0.083061$, $p = 0.7732$, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.07521$ no teste exato de Fisher.

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a gravidade do *head tilt* e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.006847$ no teste exato de Fisher. De acordo com a tabela 4, 56,2% ($n=45$) dos animais com *head tilt* marcado e permanente apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento, sendo que os restantes 43,8% ($n=35$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento. No que diz respeito aos animais que apresentaram *head tilt* ligeiro e intermitente, 10% ($n=1$) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento e 90% ($n=9$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento.

Tabela 4- Tabela de Contingência das variáveis Gravidade do *Head tilt* e Desfecho

Gravidade do <i>Head tilt</i>	Desfecho	
	Negativo	Positivo
Ligeiro e Intermitente	1 (10%)	9 (90%)
Marcado e Permanente	45 (56,2%)	35 (43,8%)

No entanto, não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a gravidade do *head tilt* e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.7161$ no teste exato de Fisher.

3.4.2. Anorexia

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de anorexia e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 36.441$, $p = 0.000000001574$. De acordo com a tabela 5, 75% (n=48) dos animais com anorexia apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento, sendo que os restantes 25% (n=16) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento. No que diz respeito aos animais sem anorexia 17% (n=8) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento e 83% (n=39) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento.

Tabela 5- Tabela de contingência das variáveis Anorexia e Desfecho

	Desfecho	
	Negativo	Positivo
Anorexia		
Não	8 (17%)	39 (83%)
Sim	48 (75%)	16 (25%)

Foi também encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença anorexia e a presença de sequelas após o tratamento, $X^2(1, N=55) = 16.331$, $p = 0.00005318$. De acordo com a tabela 6, 75% (n=12) dos animais com anorexia apresentaram sequelas após o tratamento, sendo que os restantes 25% (n=4) não as apresentaram após o tratamento. No que diz respeito aos animais sem anorexia, 17,9% (n=7) apresentaram sequelas após o tratamento e 82,1% (n=32) não as apresentaram após o tratamento.

Tabela 6- Tabela de contingência das variáveis Anorexia e Sequelas

	Sequelas	
	Não	Sim
Anorexia		
Não	32 (82,1%)	7 (17,9%)
Sim	4 (25%)	12 (75%)

3.4.3. *Rolling*

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de *rolling* e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 3.4113$, $p = 0.06475$.

No entanto, foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença *rolling* e a presença de sequelas após o tratamento, $X^2(1, N=55) = 5.2235$, $p = 0.02228$. De acordo com a tabela 7, 55,6% (n=10) dos animais com *rolling* apresentaram sequelas após o tratamento, sendo que os restantes 44,4% (n=8) não as apresentaram após o tratamento. No que diz respeito aos animais sem *rolling*, 24,3% (n=9) apresentaram sequelas após o tratamento e 75,7% (n=28) não as apresentaram após o tratamento.

Tabela 7- Tabela de contingência das variáveis *Rolling* e Sequelas

	Sequelas	
	Não	Sim
<i>Rolling</i>		
Não	28 (75,7%)	9 (24,3%)
Sim	8 (44,4%)	10 (55,6%)

3.4.4. Apatia

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de apatia e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 14.748$, $p = 0.0001229$. De acordo com a tabela 8, 73,8% (n=31) dos animais com apatia apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento, sendo que os restantes 26,2% (n=11) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento. No que diz respeito aos animais sem apatia, 36,2% (n=25) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento e 63,8% (n=44) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento.

Tabela 8- Tabela de contingência das variáveis Apatia e Desfecho

	Desfecho	
	Negativo	Positivo
Apatia		
Não	25 (36,2%)	44 (63,8%)
Sim	31 (73,8%)	11 (26,2%)

Foi também encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença apatia e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.005025$ no teste exato de Fisher. De acordo com a tabela 9, 72,7% (n=8) dos animais com apatia apresentaram sequelas após o tratamento, sendo que os restantes 27,3% (n=3) não as apresentaram após o tratamento. No que diz respeito aos animais sem apatia 25% (n=11) apresentaram sequelas após o tratamento e 75% (n=33) não as apresentaram após o tratamento.

Tabela 9- Tabela de contingência das variáveis Apatia e Sequelas

	Sequelas	
	Não	Sim
Apatia		
Não	33 (75%)	11 (25%)
Sim	3 (27,3%)	8 (72,7%)

3.4.5. Uveíte Facoclástica

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de uveíte facoclástica e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 0.043626$, $p = 0.8346$, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.1411$ no teste exato de Fisher.

3.4.6. Incontinência Urinária

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de incontinência urinária e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 4.1279$, $p = 0.04218$. De acordo com a tabela 10, 76,9% ($n=10$) dos animais com incontinência urinária apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento, sendo que os restantes 23,1% ($n=3$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento. No que diz respeito aos animais sem incontinência urinária, 46,9% ($n=46$) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento e 53,1% ($n=52$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento.

Tabela 10- Tabela de contingência das variáveis Incontinência Urinária e Desfecho

	Desfecho	
	Negativo	Positivo
Incontinência Urinária		
Não	46 (46,9%)	52 (53,1%)
Sim	10 (76,9%)	3 (23,1%)

No entanto, não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de incontinência urinária e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.2716$ no teste exato de Fisher.

3.4.7. Nistagmus

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de nistagmus e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 0.0010921$, $p = 0.9736$, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.4055$ no teste exato de Fisher.

3.4.8. Desidratação

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de desidratação e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.0606$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.3455$ no teste exato de Fisher.

3.4.9. Circling

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de *circling* e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.6788$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.4.10. Parésia dos Membros Posteriores

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de parésia dos membros posteriores e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.02714$ no teste exato de Fisher. De acordo com a tabela 11, 100% ($n=6$) dos animais com parésia dos membros posteriores apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento, sendo que 0% ($n=0$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento. No que diz respeito aos animais sem parésia dos membros posteriores 47,6% ($n=50$) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento e 52,4% ($n=55$) apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento.

Tabela 11- Tabela de contingência das variáveis Parésia dos Membros Posteriores e Desfecho

	Desfecho	
	Negativo	Positivo
Parésia dos Membros Posteriores		
Não	50 (47,6%)	55 (52,4%)
Sim	6 (100%)	0 (0%)

No entanto, não foi encontrada qualquer relação entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.4.11. Dermatite do Períneo

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de dermatite do períneo e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.3636$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.3455$ no teste exato de Fisher.

3.4.12. Cataratas

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de cataratas e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.4.13. Descoordenação

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de descoordenação e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.6182$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.5394$ no teste exato de Fisher.

3.4.14. Blefarospasmo

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de blefarospasmo e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.3455$ no teste exato de Fisher.

3.4.15. Conjuntivite

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de conjuntivite e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.3455$ no teste exato de Fisher.

3.4.16. Cegueira

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de cegueira e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.4955$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.4.17. Hifema

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de hifema e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.4.18. Convulsões

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de convulsões e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.4955$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.4.19. Hematúria

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de hematúria e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.4955$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.4.20. Úlcera da Córnea

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de úlcera da córnea e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.4955$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.3455$ no teste exato de Fisher.

3.4.21. Hipotermia

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de hipotermia e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.4.22. Deformação do Globo Ocular

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de deformação do globo ocular e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.4955$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.4.23. Disúria

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de disúria e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.4955$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.3455$ no teste exato de Fisher.

3.5. Doenças Concomitantes

Apenas 26,1% ($n=29$) dos animais da amostra em estudo apresentaram doenças concomitantes à infecção por *E. cuniculi*. Dentro destes, 6 animais apresentaram duas doenças concomitantes em simultâneo à infecção por *E. cuniculi*. Os restantes 73,9% ($n=82$) não apresentaram qualquer doença concomitante. No total, 13,5% ($n=15$) dos animais da amostra apresentaram doença dentária adquirida, 10,8% ($n=12$) apresentaram infecção respiratória superior, 2,7% ($n=3$) apresentaram hipomotilidade gastrointestinal, 2,7% ($n=3$) apresentaram coccidiose intestinal, 0,9% ($n=1$) apresentaram tumor testicular e 0,9% ($n=1$) apresentaram sarna sarcóptica.

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de doenças concomitantes e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 0.35014$, $p = 0.554$, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.3364$ no teste exato de Fisher.

3.5.1. Doença Dentária Adquirida

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de doença dentária adquirida em concomitância com a infecção por *E. cuniculi* e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 0.099332$, $p = 0.7526$, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.4264$ no teste exato de Fisher.

3.5.2. Infecção Respiratória Superior

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de infecção respiratória superior em concomitância com a infecção por *E. cuniculi* e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 0.33445$, $p = 0.563$, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.5.3. Hipomotilidade Gastrointestinal

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de hipomotilidade gastrointestinal em concomitância com a infecção por *E. cuniculi* e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.2432$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.5.4. Coccidiose Intestinal

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de coccidiose intestinal em concomitância com a infecção por *E. cuniculi* e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.5.5. Tumor testicular

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de tumor testicular em concomitância com a infecção por *E. cuniculi* e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

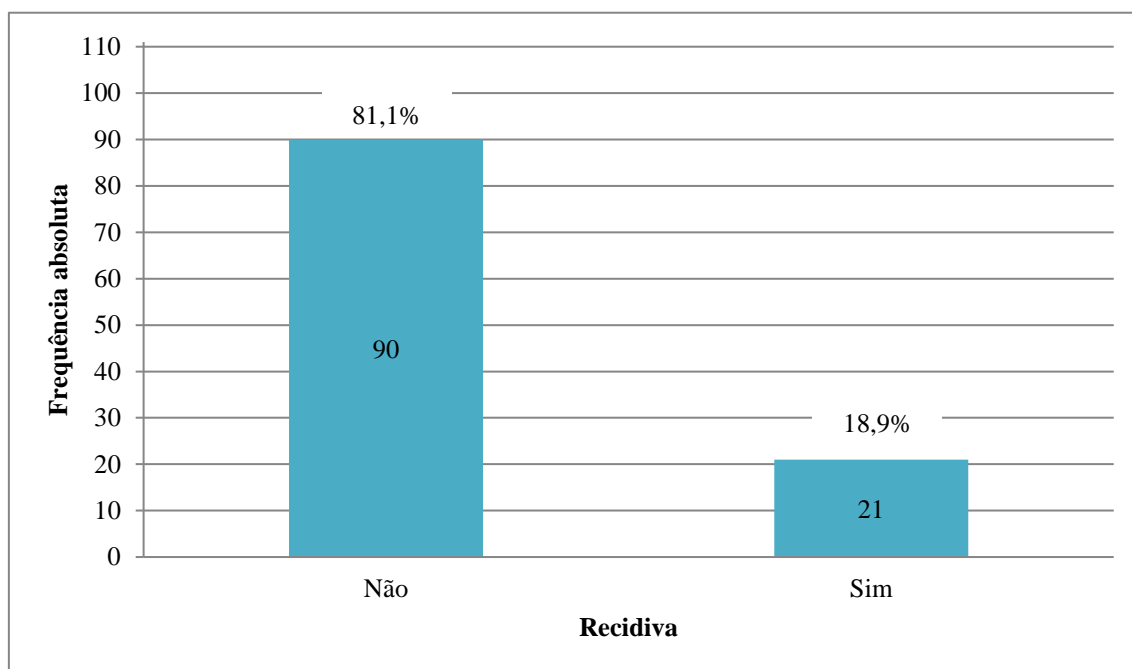
3.5.6. Sarna Sarcótica

Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a presença de sarna sarcótica em concomitância com a infecção por *E. cuniculi* e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.4955$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.3455$ no teste exato de Fisher.

3.6. Recidiva

Em apenas 18,9% (n=21) dos animais da amostra em estudo ocorreram uma ou mais recidivas após o tratamento (Gráfico 5). Deste total, 85,7% (n=18) dos animais que apresentaram recidivas após o tratamento tiveram apenas uma recidiva, 9,5% (n=2) apresentaram duas e apenas 4,8% (n=1) exibiram três recidivas.

Gráfico 5- Frequências absolutas e relativas da variável Recidiva



Não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a ocorrência de recidiva e o tipo de desfecho após o tratamento, $X^2(1, N=111) = 1.3594$, $p = 0.2436$, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 0.4264$ no teste exato de Fisher.

Em 50% (n=1) dos animais que apresentaram duas recidivas após o tratamento o desfecho foi considerado positivo, sendo que nos restantes 50% (n=1) o desfecho foi considerado negativo após o tratamento. O único animal que apresentou três recidivas após o tratamento teve um desfecho considerado negativo.

3.7. Compliance

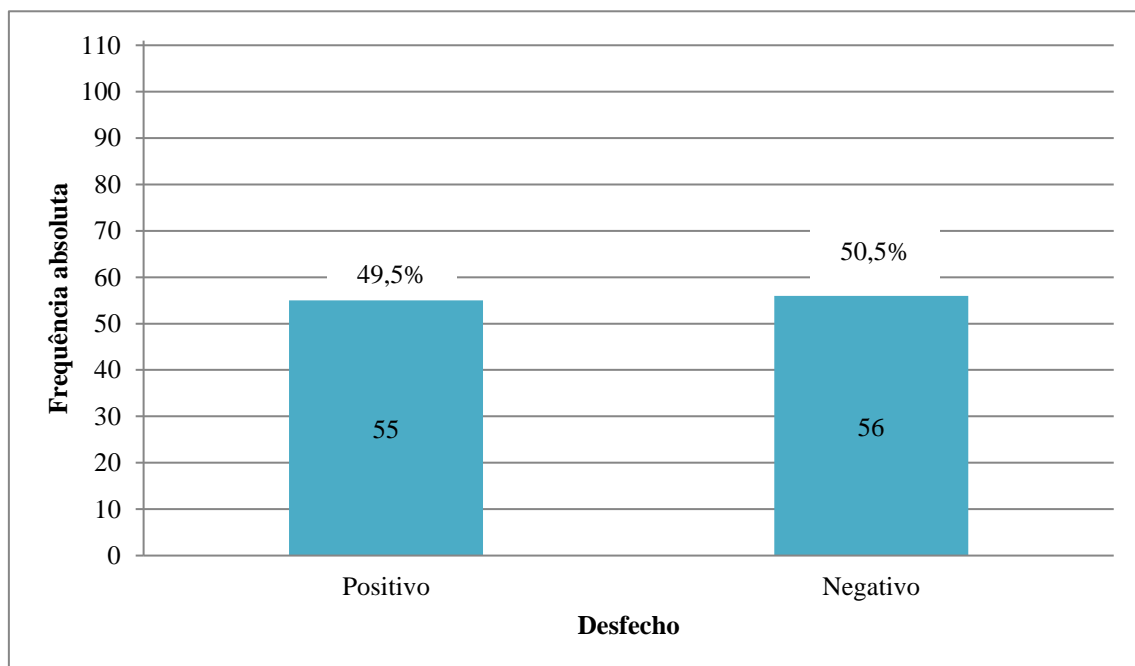
Apenas em 2,7% (n=3) dos casos houve uma *compliance* considerada negativa. Nos restantes 97,3% (n=108) a *compliance* foi considerada positiva. Todos os casos em que a *compliance* foi considerada negativa obtiveram um desfecho considerado negativo após o tratamento.

No entanto, não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa entre a *compliance* e o tipo de desfecho após o tratamento, $p = 0.2432$ no teste exato de Fisher, nem entre esta mesma variável e a presença de sequelas após o tratamento, $p = 1$ no teste exato de Fisher.

3.8. Desfecho

Quanto ao desfecho, 49,5% (n=55) dos coelhos da amostra apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento sendo que os restantes 50,5% (n=56) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento (Gráfico 6).

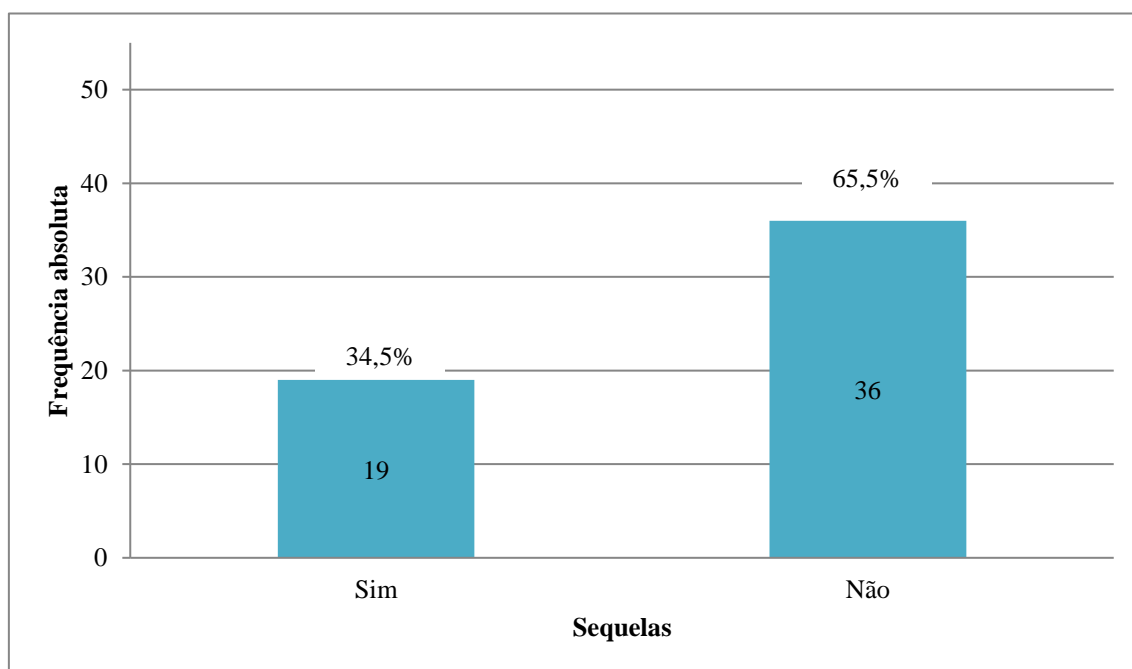
Gráfico 6- Frequências absolutas e relativas da variável Desfecho



3.9.Sequelas

Dos animais que apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento, apenas 34,5% (n=19) apresentaram sequelas sendo que os restantes 65,5% (n=36) não apresentaram sequelas após o tratamento (Gráfico 7).

Gráfico 7- Frequências absolutas e relativas da variável Sequelas



4. Discussão

E. cuniculi é um fungo parasita com uma elevada prevalência ao nível das populações de coelhos em todo o mundo (Mathis *et al.*, 2005). O seu estudo torna-se particularmente importante tendo em conta o seu carácter zoonótico (Didier *et al.*, 2000) associado à crescente procura por animais exóticos como animais de companhia, como é o caso recente do coelho (Meredith & Flecknell, 2006). Esta aproximação do coelho ao Homem potencia o risco de transmissão deste agente com carácter zoonótico (Warwick *et al.*, 2012) pelo que cada vez se tem dado mais importância ao estudo deste agente com impacto na saúde pública (Valencakova *et al.*, 2008).

O estudo dos diversos fatores influenciadores no prognóstico de coelhos infetados por *E. cuniculi* torna-se vital para que o médico veterinário possa, de uma forma mais clara, escolher o protocolo terapêutico mais adequado para cada caso em particular, tendo em conta a probabilidade de recuperação do animal, bem como informar os tutores dos animais dessa mesma probabilidade de recuperação, de forma a gerir as suas expectativas e para que estes possam tomar uma decisão de forma mais informada e consciente.

Tendo em conta que ainda não existem muitos estudos relativos ao prognóstico de coelhos infetados por *E. cuniculi*, o presente estudo tinha como principal objetivo a avaliação do impacto de diversas variáveis observadas em consulta no prognóstico de coelhos infetados por *E. cuniculi* na sua forma clínica. Para tal foi efetuado um estudo retrospectivo com base numa amostra de 111 coelhos pacientes no CVEP, cuja história clínica foi colhida a partir da base de dados informática da própria clínica.

A idade média obtida no momento do diagnóstico foi de 3,063 anos, e variou entre 1 mês e 12 anos. Apenas 15,3% (n=17) dos animais da amostra apresentavam uma idade considerada jovem (< 6 meses) neste momento, sendo que os restantes 84,7% (n=94) eram já coelhos adultos (> ou = 6 meses) quando foram diagnosticados com *E. cuniculi*, o que vai ao encontro de vários estudos que referem que a prevalência é superior em coelhos adultos relativamente a coelhos jovens (Dipineto *et al.*, 2008; Tee *et al.*, 2011) embora existam estudos em que não foram detetadas diferenças de prevalência consoante a idade (Keeble & Shaw, 2006; Cray, Arcia, Schneider, Kelleher, & Arheart, 2009; Jeklova *et al.*, 2010). Esta diferença de prevalência pode ser explicada em parte pelo facto de animais muito jovens apresentarem anticorpos maternos que conferem alguma proteção até às 4 semanas de idade (Khan *et al.*, 2001).

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a idade no momento do diagnóstico e o tipo de desfecho após o tratamento, sendo que animais com uma idade ao diagnóstico superior ou igual a 3 anos apresentaram pior prognóstico, quando comparados com animais com uma idade ao diagnóstico inferior aos 3 anos. Tal pode ser parcialmente explicado pelo facto de coelhos mais jovens apresentarem principalmente sinais clínicos oculares (Wolfer *et al.*, 1993), que podem ser controlados com terapêutica médica e eliminados de forma cirúrgica (Künzel & Joachim, 2010), apresentando melhor prognóstico comparativamente ao quadro clínico renal, que apenas se manifesta em idades mais avançadas e que apresenta um prognóstico mais desfavorável (Künzel & Joachim, 2010). No entanto, chegou-se à conclusão que a probabilidade da presença de sequelas após o tratamento não varia de forma estatisticamente significativa com a idade ao diagnóstico.

No que diz respeito ao sexo dos animais, obteve-se uma prevalência superior de coelhos machos infetados com *E. cuniculi* na sua forma clínica comparativamente com coelhos fêmeas, sendo que 65,8% (n=73) dos coelhos da amostra eram machos e 34,2% (n=38) dos coelhos da amostra eram fêmeas, o que vai ao encontro de estudos existentes (Harcourt-Brown, 2004). No entanto, alguns estudos indicam que não existe qualquer relação entre o sexo e a infeção por este parasita (Keeble & Shaw, 2006; Dipineto *et al.*, 2008; Cray *et al.*, 2009; Jeklova *et al.*, 2010; Tee *et al.*, 2011). Este estudo mostra assim que o sexo não interfere com a capacidade de recuperação de coelhos infetados por *E. cuniculi*.

Observou-se que o quadro clínico mais prevalente é o neurológico, uma vez que 89,2% (n=99) dos animais desta amostra apresentaram este quadro clínico, seguido do quadro clínico renal, com 20,7% (n=23) dos animais da amostra e por último o quadro clínico ocular, que ocorreu apenas em 18,9% (n=21) dos animais da amostra. O facto de o quadro clínico neurológico ser o mais prevalente vai ao encontro de estudos existentes (Harcourt-Brown, 2004; Jordan *et al.*, 2006a; Künzel *et al.*, 2008; Cray *et al.*, 2009), no entanto, alguns estudos indicam que o segundo quadro clínico mais prevalente é o ocular (Dipineto *et al.*, 2008; Künzel *et al.*, 2008; Tee *et al.*, 2011), o que não se verificou neste estudo. No entanto, no quadro clínico renal os animais apresentam sinais clínicos pouco específicos (Harcourt-Brown & Holloway, 2003), o que pode explicar parcialmente as variações de resultados de prevalência deste quadro clínico.

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de um quadro clínico renal e o tipo de desfecho após o tratamento, em que os animais que manifestem este quadro clínico apresentam pior prognóstico. Este resultado está de acordo com estudos existentes (Künzel & Joachim, 2010) e pode ser explicado pelo facto de os sinais clínicos pouco específicos do quadro clínico renal, normalmente só se manifestarem quando a lesão renal já se encontra numa fase avançada (Csokai *et al.*, 2009a), sendo que os animais acabam por morrer ou ser submetidos a eutanásia (Harcourt-Brown & Holloway, 2003; Valencakova *et al.*, 2008; Künzel & Joachim, 2010). Para além disso, está demonstrado que a anorexia interfere com a capacidade de recuperação do animal (Valencakova *et al.*, 2008), e este é um dos sinais clínicos pouco específicos do quadro clínico renal. No entanto, não parece existir uma maior tendência para a presença de sequelas em animais que apresentem um quadro clínico renal. Isto pode ser parcialmente explicado pelo facto de animais que o apresentem raramente sobrevivem e, portanto, não chegam a apresentar sequelas.

A presença de um quadro clínico neurológico ou ocular não parece influenciar o prognóstico. Tal pode ser explicado pela maior eficácia do tratamento em animais que apresentem estes quadros clínicos, comparativamente com os que apresentem um quadro clínico renal (Künzel & Joachim, 2010).

Observou-se que 24,3% (n=27) dos animais da amostra apresentaram vários quadros clínicos em conjunto, situação descrita em alguns estudos (Harcourt-Brown & Holloway, 2003; Künzel *et al.*, 2008). Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de vários quadros clínicos em conjunto e o desfecho após o tratamento. Tal pode ser parcialmente explicado pelo facto de grande parte destes animais (85,2%, n=23) terem apresentado, em conjunto com outro(s) quadro(s) clínico(s), um quadro clínico renal que apresenta um prognóstico desfavorável (Csokai *et al.*, 2010). Para além disto, a afeção de diferentes órgãos em simultâneo debilita mais rapidamente e de forma mais marcada a condição do animal e o tratamento terá de ser mais abrangente. A presença de vários quadros clínicos em conjunto não aparenta influenciar a presença de sequelas após o tratamento, situação que poderá ser parcialmente explicada pelo facto de muitos destes animais não sobreviverem após o tratamento e, consequentemente, não chegam a apresentar sequelas.

O sinal clínico observado com maior frequência nesta amostra foi o *head tilt*, com 81,1% (n=90) dos animais a apresentá-lo. Este resultado está de acordo com estudos existentes (Harcourt-Brown & Holloway, 2003; Künzel *et al.*, 2008; Jass *et al.*, 2008). Este resultado pode ser explicado pelo facto de este ser o sinal clínico mais facilmente detetado pelos tutores dos animais e que é mais frequentemente indicativo de uma suspeita de infeção por *E. cuniculi* (Harcourt-Brown, 2004). Apesar de estar descrito que o quadro clínico neurológico normalmente não afeta a capacidade de alimentação dos animais (Künzel & Fisher, 2018), verificou-se que 57,7% (n=64) dos animais da amostra apresentaram anorexia, sendo este o segundo sinal clínico mais frequentemente observado. Isto pode ser explicado por ser um sinal pouco específico, que pode ser atribuído a qualquer um dos quadros clínicos e pode ser resultado da debilidade a que o animal fica sujeito.

Dentro dos sinais clínicos oculares, o mais frequentemente observado foi uveíte facoclástica, com 17,1% (n=19) dos animais da amostra a apresentá-lo, o que corresponde a 90,5% dos animais com um quadro clínico ocular. Estes resultados vão ao encontro dos resultados obtidos noutros estudos (Künzel *et al.*, 2008).

No que diz respeito aos sinais clínicos urinários mais específicos, a presença de incontinência urinária foi o mais frequentemente observado, com 10,8% (n=12) dos animais da amostra a exibi-lo, o que corresponde a 52,2% dos animais com um quadro clínico renal. No entanto, ainda não se sabe ao certo se este sinal clínico se deve à lesão renal, ou a lesões neurológicas provocadas pela infeção (Jordan *et al.*, 2006a).

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a gravidade do *head tilt* e o tipo de desfecho após o tratamento, sendo que animais que apresentem um *head tilt* marcado e permanente parecem ter pior prognóstico do que quando esse *head tilt* é ligeiro e intermitente. Este resultado está de acordo com o que está descrito no estudo de Künzel *et al.* (2008). Isto pode ser explicado pelo facto de estes animais terem uma maior dificuldade em se alimentarem, o que afeta a sua capacidade de recuperação (Valencakova *et al.*, 2008). Para além disso, também terão mais dificuldade na locomoção, sendo que está descrito que a atividade física auxilia a capacidade de recuperação do animal (Harcourt-Brown, 2002; Künzel & Fisher, 2018).

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de anorexia e a capacidade de recuperação do animal. Observou-se que animais que apresentassem anorexia, apresentavam uma maior probabilidade de não responderem ao tratamento ou a sua recuperação ser limitada apresentando sequelas. Estes resultados estão de acordo com o que está descrito em outros estudos (Valencakova *et al.*, 2008, nomeadamente que animais que continuam a comer de forma adequada e deliberada têm um melhor prognóstico, podendo sobreviver até 2 anos sem intervenção terapêutica.

Também a apatia parece afetar a capacidade de recuperação dos animais, sendo que foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de apatia e o tipo de desfecho após o tratamento, bem como entre este sinal clínico e a presença de sequelas após o tratamento. Isto pode ser explicado pelo facto da grande maioria (95,2%) dos animais que apresentaram apatia, exibirem também anorexia, provavelmente devido à debilidade decorrente da falta de ingestão dos nutrientes necessários. Para além disto, a apatia é um sinal clínico que tende a aparecer quando a infeção já está numa fase avançada e, portanto, com pior prognóstico.

Neste estudo chegou-se à conclusão que existe uma relação estatisticamente significativa entre o *rolling* e a presença de sequelas após o tratamento, na qual os animais que apresentem este sinal clínico, parecem ter uma maior probabilidade de exibirem sequelas após o tratamento. O *rolling* consiste num sinal clínico do grupo dos sinais que estão associados à síndrome vestibular, mas que indica uma alteração neurológica mais profunda, em que o animal não se consegue manter em estação. Este resultado está de acordo com o estudo de Valencakova *et al.* (2008), no qual se descreve que alterações neurológicas profundas apresentam um pior prognóstico. Isto pode ser explicado da mesma maneira que o *head tilt* marcado e permanente, sendo que estes animais não se conseguem alimentar e mover de forma adequada, apresentando um pior prognóstico. (Harcourt-Brown, 2002; Valencakova *et al.*, 2008; Künzel & Fisher, 2018). No entanto, contrariamente ao *head tilt* marcado e permanente, animais com *rolling* não apresentam diferenças estatisticamente significativas no tipo de desfecho após o tratamento, comparativamente a animais sem *rolling*, pois apenas aparentam ter uma maior predisposição para apresentarem sequelas, pelo que podem sobreviver, mas sem recuperarem totalmente.

Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de incontinência urinária e o tipo de desfecho após o tratamento, sendo que animais que apresentem este sinal clínico parecem apresentar um prognóstico mais desfavorável. Isto pode ser explicado pelo facto de ser o sinal específico de afeção urinária mais frequentemente observado em animais que apresentem um quadro clínico renal, o qual apresenta um prognóstico desfavorável quando a lesão renal se começa a manifestar (Harcourt-Brown & Holloway, 2003; Valencakova *et al.*, 2008; Künzel & Joachim, 2010; Csokai *et al.*, 2010). No entanto, ainda se terá de esclarecer se este sinal clínico se deve de facto a uma falência renal ou a lesões neurológicas decorrentes da infeção (Jordan *et al.*, 2006a). Não parece haver uma relação estatisticamente significativa entre a presença de incontinência urinária e a presença de sequelas após o tratamento, no entanto isto pode ser parcialmente explicado pelo facto de animais que apresentem sinais clínicos compatíveis com um quadro clínico renal raramente sobreviverem e, portanto, não chegam a apresentar sequelas.

Neste estudo observou-se que existe uma relação estatisticamente significativa entre a presença de parésia dos membros posteriores e o tipo de desfecho após o tratamento, sendo que animais que apresentem este sinal clínico parecem apresentar um pior prognóstico, o que está acordo com estudos existentes (Harcourt-Brown & Holloway, 2003; Valencakova *et al.*, 2008) que indicam que animais com quadro clínico neurológico grave podem não responder ao tratamento. Esta alteração dificulta a capacidade de locomoção do animal, o que prejudica a sua capacidade de recuperação (Harcourt-Brown, 2002; Künzel & Fisher, 2018). Para além disto, a parésia dos membros posteriores tem um impacto extremamente negativo na qualidade de vida do animal, sendo que a eutanásia deverá ser ponderada nestes casos. Assim, como grande parte destes animais serão submetidos a eutanásia, não chegam a apresentar sequelas após o tratamento.

Quanto à presença de doenças concomitantes à infeção por *E. cuniculi*, observou-se que 26,1% (n=29) dos animais da amostra apresentaram doenças concomitantes, sendo que a mais prevalente foi a doença dentária adquirida, observada em 13,5% (n=15) dos animais da amostra, seguida pela infeção respiratória superior em 10,8% (n=12) dos animais da amostra. Para além destas afeções foi observado com menor frequência a presença de hipomotilidade gastrointestinal, coccidiose intestinal, tumor testicular e ainda sarna sarcóptica em concomitância com a infeção por *E. cuniculi*. Não foram encontrados estudos referentes à prevalência de doenças concomitantes em coelhos infetados por *E.*

cuniculi, nem relativos à relevância destas doenças concomitantes no prognóstico de animais infetados por este parasita. A elevada prevalência de doença dentária adquirida em concomitância com a infeção por *E. cuniculi* pode ser explicada pelo facto de ser uma alteração encontrada com muita frequência nos coelhos domésticos. Böhmer & Böhmer (2017) referem uma prevalência de 90% de doença dentária em coelhos domésticos. No entanto, este valor é diferente do de outros estudos que referem uma prevalência entre os 30 e 40% (Mullan & Main, 2006; Jekl, Hauptman & Knotek, 2008; Castejon, 2016). Para além disto, a anorexia que acompanha por vezes a infeção por *E. cuniculi* pode contribuir para esta situação, visto provocar um menor desgaste dentário. Uma vez que os quadros clínicos provocados pela infeção por *E. cuniculi* se manifestam principalmente em situações de imunodepressão (Valencakova & Halanova, 2012), é compreensível que a infeção respiratória superior seja uma doença que ocorra com alguma frequência em concomitância nestes animais. Neste estudo não foi detetada qualquer relevância estatisticamente significativa relativamente à presença de doenças concomitantes em coelhos infetados por *E. cuniculi* no seu prognóstico. No entanto, seria de esperar que coelhos que apresentem doença dentária adquirida apresentem consequentemente anorexia (Harcourt-Brown, 1996), o que iria prejudicar a capacidade de recuperação dos animais infetados por *E. cuniculi* (Valencakova *et al.*, 2008). Observou-se que 80% (n=12) dos animais com doença dentária adquirida concomitante à infeção por *E. cuniculi* apresentavam anorexia, no entanto não pareceu influenciar a capacidade de recuperação destes animais. Este resultado pode ser parcialmente explicado pelo facto de grande parte destes animais terem sido submetidos a tratamento dentário adequado e terem posteriormente recuperado da sua condição de anorexia.

No que diz respeito à ocorrência e número de recidivas, 18,9% (n=21) dos animais da amostra apresentaram pelo menos uma recidiva após o tratamento sendo que em um animal a doença recidivou por três ocasiões. Contrariamente a este estudo, no estudo de Deplazes *et al.* (1996) em nenhum dos animais da amostra ocorreu recidiva num período de 3 a 14 meses após o tratamento. A ocorrência de recidivas pode ser devido a uma reinfeção ou a uma infeção reativada (Jeklova *et al.*, 2010), visto haver capacidade de o parasita permanecer no organismo em equilíbrio com o sistema imunitário do hospedeiro por longos períodos até à ocorrência de um fator de stress (Jordan *et al.*, 2006a). Para além disto, alguns autores defendem que nenhum fármaco consegue eliminar totalmente *E. cuniculi* dos tecidos infetados, ficando o portador sempre suscetível a uma possível

reativação (Harcourt-Brown, 2004). Neste estudo não foi detetada qualquer relação estatisticamente significativa entre a ocorrência de recidivas após o tratamento e o prognóstico em animais infetados por *E. cuniculi*, pelo que se pode concluir que se ocorrerem recidivas, estas devem ser tratadas de igual forma à infeção original, não sendo indicativo de um prognóstico mais desfavorável.

Quanto à *compliance*, apenas em 3 casos (2,7% da amostra) ocorreram falhas terapêuticas por má *compliance* dos tutores dos animais infetados por *E. cuniculi*. Segundo os resultados obtidos neste estudo, a *compliance* não parece interferir de forma estatisticamente significativa no prognóstico de animais infetados por *E. cuniculi*, no entanto este resultado pode ser atribuído à baixa proporção de casos em que ocorreu uma *compliance* negativa, pois todos os casos em que essa *compliance* foi negativa obtiveram um desfecho negativo. Mais estudos deveriam ser efetuados relativamente a este tema, no entanto é de esperar que falhas na instituição do protocolo terapêutico adequado levem a um pior prognóstico, apesar de estar descrito que pode haver uma recuperação espontânea do animal infetado por *E. cuniculi* sem a aplicação de qualquer tratamento (Harcourt-Brown & Holloway, 2003).

No que diz respeito ao tipo de desfecho dos casos da amostra em estudo, 49,5% (n=55) dos animais da amostra apresentaram um desfecho considerado positivo após o tratamento, sendo que os restantes 50,5% (n=56) apresentaram um desfecho considerado negativo após o tratamento. Assim neste trabalho podemos concluir que a taxa de sucesso terapêutico em coelhos infetados por *E. cuniculi* na sua forma ativa é de cerca de 50%. Os resultados obtidos estão de acordo com estudos existentes que reportam uma taxa de recuperação de cerca de 50% (Harcourt-Brown, 2004; Künzel & Fisher, 2018).

Dos animais que obtiveram um desfecho considerado positivo após o tratamento, 34,5% (n=19) apresentaram sequelas apesar de se manterem clinicamente estáveis e com qualidade de vida. Estes casos devem-se ao facto de alguns sinais clínicos persistirem devido às alterações tecidulares irreversíveis causadas pela inflamação granulomatosa decorrente da infeção por *E. cuniculi* que se mantêm mesmo após a eliminação do parasita (Harcourt-Brown, 2004). Para além disto, a maioria dos animais que apresentem um quadro clínico ocular com a presença de uveíte facoclástica permanecem com granulomas ao nível do cristalino e cataratas mesmo após o tratamento, sendo que uma cura completa

só é conseguida apenas com uma intervenção cirúrgica (facoemulsificação) (Künzel & Joachim, 2010).

O facto de muitas vezes não ter existido um diagnóstico definitivo de *E. cuniculi* baseado em testes serológicos ou moleculares consiste numa das limitações deste estudo, no entanto todos os animais da amostra apresentavam uma forte suspeita de infeção por *E. cuniculi* e os principais diagnósticos diferenciais foram descartados sempre que não foi possível a obtenção de um diagnóstico definitivo. Deve-se ter em conta que alguns diagnósticos diferenciais de síndrome vestibular nem sempre foram descartados, como é o caso da toxoplasmose ou infeções bacterianas ou virais do sistema nervoso devido à sua reduzida prevalência, o que constitui uma limitação deste estudo. A presença de informação clínica incompleta dificultou a obtenção de dados e levou à redução do número de animais da amostra.

Não foi possível obter informação relativa a análises clínicas de um número suficiente de animais, pelo que esta informação não foi tomada em conta para este estudo. No entanto, seria benéfico o estudo do impacto de diversas análises clínicas no prognóstico de coelhos infetados por *E. cuniculi*, tais como proteinograma, rácio proteína creatinina urinária (UPC), titulação de serologia tanto de IgM como IgG, entre outras.

5. Perspetivas Futuras

No que diz respeito a estudos futuros, seria interessante o desenvolvimento de estudos semelhantes, mas utilizando uma amostra de maiores dimensões, com uma história clínica mais completa e com animais provenientes de várias clínicas. Para além disso, seria conveniente que todos os animais fossem submetidos a um diagnóstico definitivo recorrendo a técnicas serológicas ou moleculares. Seria ainda interessante estudar a influência de um maior número de variáveis no prognóstico de animais infetados por *E. cuniculi*, de forma a incluir variáveis relativas a análises clínicas tais como titulação de anticorpos em serologia, rácio proteína creatinina urinária, níveis séricos de ureia e creatinina, electroforese serológica (proteinograma) e alterações em hemograma.

Para além disto, seria interessante a realização de um estudo semelhante relativo à influência de diversas variáveis no prognóstico de infeção por *E. cuniculi* na sua forma ativa mas em outras espécies animais tais como o cobaio (*Cavia porcellus*).

6. Conclusão

Ainda não existe um protocolo terapêutico reconhecido e uniformizado para o tratamento de uma infecção por *E. cuniculi* em coelhos e existe uma grande variação na resposta dos animais ao tratamento instituído. Desta forma torna-se difícil prever de que forma o caso clínico poderá evoluir dificultando a tomada de decisão por parte dos médicos veterinários e dos próprios tutores dos animais infetados. Tratando-se este de um agente com uma grande prevalência na população mundial de coelhos e tendo em conta o seu carácter zoonótico é da maior importância para a saúde pública o estudo e controlo deste parasita.

Com este estudo concluiu-se que são diversos os fatores que podem afetar a capacidade de recuperação de um coelho infetado por *E. cuniculi* face ao tratamento instituído. Observou-se que uma idade ao diagnóstico igual ou superior aos 3 anos de idade, presença de um quadro clínico renal, de vários quadros clínicos em conjunto, alterações neurológicas graves, de incontinência urinária e a presença de anorexia e apatia, afetam a capacidade de recuperação do animal e, portanto, estes animais apresentam um prognóstico mais desfavorável.

No caso concreto da presença de anorexia e apatia, chegou-se à conclusão que, para além de aumentar a probabilidade de insucesso terapêutico, predispõe também para a permanência de sequelas em animais que respondam à terapêutica instituída. No que diz respeito a coelhos infetados que apresentem *rolling*, não parece existir uma alteração na capacidade de resposta ao tratamento, no entanto existe uma maior predisposição para a permanência de sequelas. Por outro lado, ao contrário do esperado, a presença de doenças concomitantes e a ocorrência de recidivas, não parecem ter um impacto negativo ao nível do prognóstico, no entanto quaisquer doenças concomitantes existentes deverão ser tratadas adequadamente, de forma a não agravar a condição do animal.

Mais estudos deverão ser efetuados para confirmar estes resultados e obter resultados relativos a mais variáveis e para mais espécies animais, no entanto este estudo pode auxiliar na determinação de um prognóstico mais correto de animais infetados por *E. cuniculi*, para que o médico veterinário opte pelo protocolo terapêutico mais adequado para cada caso e para que este consiga gerir de forma adequada as expectativas dos tutores destes animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baldotto, S. B., Cray, C., Giannico, A. T., Reifur, L., & Montiani-Ferreira, F. (2015). Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* infection in pet rabbits in Brazil. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 24(4), 435-440.
- Baneux, P. J. R., & Pognan, F. (2003). In utero transmission of *Encephalitozoon cuniculi* strain type I in rabbits. *Laboratory animals*, 37(2), 132-138.
- Beauvais, B., Sarfati, C., Challier, S., & Derouin, F. (1994). In vitro model to assess effect of antimicrobial agents on *Encephalitozoon cuniculi*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 38(10), 2440-2448.
- Böhmer, C., & Böhmer, E. (2017). Shape Variation in the Craniomandibular System and Prevalence of Dental Problems in Domestic Rabbits: A Case Study in Evolutionary Veterinary Science. *Veterinary sciences*, 4(1), 5.
- Bohne, W., Böttcher, K., & Groß, U. (2011). The parasitophorous vacuole of *Encephalitozoon cuniculi*: Biogenesis and characteristics of the host cell–pathogen interface. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(5), 395-399.
- Canning, E. U., & Hollister, W. S. (1987). Microsporidia of mammals—widespread pathogens or opportunistic curiosities? *Parasitology Today*, 3(9), 267-273.
- Castejon, A. (2016). Breeding for good dental and oral health in rabbits. *The Veterinary Record*, 178(14), 339-340.
- Cox, J. C., Hamilton, R. C., & Attwood, H. D. (1979). An investigation of the route and progression of *Encephalitozoon cuniculi* infection in adult rabbits. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 26(2), 260-265.
- Cox, J. C., Hamilton, R. C., Pye, D., & Edmonds, J. W. (1986). The infectivity of *Encephalitozoon cuniculi* in vivo and in vitro. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 72(1), 65-72.
- Cray, C., Arcia, G., Schneider, R., Kelleher, S. A., & Arheart, K. L. (2009). Evaluation of the usefulness of an ELISA and protein electrophoresis in the diagnosis of

Encephalitozoon cuniculi infection in rabbits. *American journal of veterinary research*, 70(4), 478-482.

Csokai, J., Fuchs-Baumgartinger, A., Maass, G., & Joachim, A. (2010). Detection of *Encephalitozoon cuniculi*-infection (strain II) by PCR in a cat with anterior uveitis. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 97(7/8), 210-215.

Csokai, J., Gruber, A., Künzel, F., Tichy, A., & Joachim, A. (2009a). Encephalitozoonosis in pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): pathohistological findings in animals with latent infection versus clinical manifestation. *Parasitology research*, 104(3), 629-635.

Csokai, J., Joachim, A., Gruber, A., Tichy, A., Pakozdy, A., & Künzel, F. (2009b). Diagnostic markers for encephalitozoonosis in pet rabbits. *Veterinary parasitology*, 163(1-2), 18-26.

Deeb, B. J., & Carpenter, J. W. (2004). Neurologic and musculoskeletal diseases. In Quesenberry KE, Carpenter JW (Eds.), *Ferrets, rabbits, and rodents: Clinical medicine and surgery*. (2nd ed.). (pp 203–209). St. Louis: Saunders.

Deeb, B. J., & DiGiacomo, R. F. (1994). Cerebral larva migrans caused by *Baylisascaris* sp in pet rabbits. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205(12), 1744-1747.

Deplazes, P., Mathis, A., Baumgartner, R., Tanner, I., & Weber, R. (1996). Immunologic and molecular characteristics of *Encephalitozoon*-like microsporidia isolated from humans and rabbits indicate that *Encephalitozoon cuniculi* is a zoonotic parasite. *Clinical Infectious Diseases*, 22(3), 557-559.

Desoubreaux, G., Pantin, A., Peschke, R., Joachim, A., & Cray, C. (2017). Application of Western blot analysis for the diagnosis of *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits: example of a quantitative approach. *Parasitology research*, 116(2), 743-750.

Di Giuseppe, M., Romano, P., Gelli, D., Scopitteri, T., & Congiu, F. (2016). Correlation between γ -globulins and *Encephalitozoon cuniculi* immunoglobulins in suspected infected rabbits. *Comparative Clinical Pathology*, 25(6), 1237-1239.

- Didier, E. S. (1997). Effects of albendazole, fumagillin, and TNP-470 on microsporidial replication in vitro. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 41(7), 1541-1546.
- Didier, E. S. (2005). Microsporidiosis: an emerging and opportunistic infection in humans and animals. *Acta tropica*, 94(1), 61-76.
- Didier, E. S., Didier, P. J., Snowden, K. F., & Shadduck, J. A. (2000). Microsporidiosis in mammals. *Microbes and Infection*, 2(6), 709-720.
- Didier, E. S., Orenstein, J. M., Aldras, A., Bertucci, D., Rogers, L. B., & Janney, F. A. (1995). Comparison of three staining methods for detecting microsporidia in fluids. *Journal of clinical Microbiology*, 33(12), 3138-3145.
- Didier, E. S., Stovall, M. E., Green, L. C., Brindley, P. J., Sestak, K., & Didier, P. J. (2004). Epidemiology of microsporidiosis: sources and modes of transmission. *Veterinary parasitology*, 126(1-2), 145-166.
- Didier, E. S., & Weiss, L. M. (2011). Microsporidiosis: not just in AIDS patients. *Current opinion in infectious diseases*, 24(5), 490.
- Dipineto, L., Rinaldi, L., Santaniello, A., Sensale, M., Cuomo, A., Calabria, M., & Fioretti, A. (2008). Serological survey for antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits in Italy. *Zoonoses and public health*, 55(3), 173-175.
- Donnelly, T. M. (2003). *Encephalitozoon cuniculi*-associated phacoclastic uveitis in the rabbit: a review. *Exot Mam Med Surg*, 1, 1-3.
- Dubey, J. P., Brown, C. A., Carpenter, J. L., & Moore III, J. J. (1992). Fatal toxoplasmosis in domestic rabbits in the USA. *Veterinary Parasitology*, 44(3-4), 305-309.
- Felchle, L. M., & Sigler, R. L. (2002). Phacoemulsification for the management of *Encephalitozoon cuniculi*-induced phacoclastic uveitis in a rabbit. *Veterinary Ophthalmology*, 5(3), 211-215.
- Fisher, P. G. (2006). Exotic mammal renal disease: diagnosis and treatment. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 9(1), 69-96.

- Fiskett, R. A. M. (2005). Increasing efficiency and profitability of the exotic pet practice. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 8(3), 475-486.
- Franssen, F. F., Lumeij, J. T., & Van Knapen, F. (1995). Susceptibility of *Encephalitozoon cuniculi* to several drugs in vitro. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(6), 1265-1268.
- Franzen, C., Müller, A., Hartmann, P., & Salzberger, B. (2005). Cell invasion and intracellular fate of *Encephalitozoon cuniculi* (Microsporidia). *Parasitology*, 130(3), 285-292.
- Grest, P., Albicker, P., Hoelzle, L., Wild, P., & Pospischil, A. (2002). Herpes simplex encephalitis in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Comparative Pathology*, 126(4), 308-311.
- Gruber, A., Pakozdy, A., Weissenböck, H., Csokai, J., & Künzel, F. (2009). A retrospective study of neurological disease in 118 rabbits. *Journal of comparative pathology*, 140(1), 31-37.
- Halanova, M., Cislakova, L., Valencakova, A., Balent, P., Adam, J., & Travnicek, M. (2003). Serological screening of occurrence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in humans and animals in Eastern Slovakia. *Annals of agricultural and environmental medicine: AAEM*, 10(1), 117-120.
- Harcourt-Brown, F. M. (1996). Calcium deficiency, diet and dental disease in pet rabbits. *The Veterinary Record*, 139(23), 567-571.
- Harcourt-Brown, F. M. (2002). *Textbook of rabbit medicine*. Oxford: Butterworth-Heinemann
- Harcourt-Brown, F. M. (2004). *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 13: 86-93
- Harcourt-Brown, F. M., & Holloway, H. K. (2003). *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits. *The Veterinary Record*, 152(14), 427-431.

- Horváth, M., Svicky, E., & Sevcikova, Z. (1998). Pathomorphological response to *Encephalitozoon cuniculi* infection in cyclophosphamide treated rabbits. *Acta Veterinaria (Czech Republic)*, 67:37–42.
- Igarashi, M., Oohashi, E., Dautu, G., Ueno, A., Kariya, T., & Furuya, K. (2008). High seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 70(12), 1301-1304.
- Jass, A., Matiassek, K., Henke, J., Küchenhoff, H., Hartmann, K., & Fischer, A. (2008). Analysis of cerebrospinal fluid in healthy rabbits and rabbits with clinically suspected encephalitozoonosis. *The Veterinary Record*, 162(19), 618-622.
- Jekl, V., Hauptman, K. & Knotek, Z. (2008). Quantitative and qualitative assessments of intraoral lesions in 180 small herbivorous mammals. *The Veterinary Record*, 162, 442-449
- Jeklova, E., Jekl, V., Kovarcik, K., Hauptman, K., Koudela, B., Neumayerova, H., & Faldyna, M. (2010). Usefulness of detection of specific IgM and IgG antibodies for diagnosis of clinical encephalitozoonosis in pet rabbits. *Veterinary Parasitology*, 170(1-2), 143-148.
- Jordan, C. N., Zajac, A. M., & Lindsay, D. S. (2006a). *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits. *Parasitology*, 28(2).
- Jordan, C. N., Zajac, A. M., Snowden, K. S., & Lindsay, D. S. (2006b). Direct agglutination test for *Encephalitozoon cuniculi*. *Veterinary Parasitology*, 135(3-4), 235-240.
- Karp, B. E., Ball, N. E., Scott, C. R., & Walcoff, J. B. (1999). Rabies in two privately owned domestic rabbits. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215(12), 1824-7.
- Katinka, M. D., Duprat, S., Cornillot, E., Méténier, G., Thomarat, F., Prensier, G., & Delbac, F. (2001). Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi*. *Nature*, 414(6862), 450.

- Keeble, E. (2011). Encephalitozoonosis in rabbits—what we do and don't know. *In Practice*, 33(9), 426-435.
- Keeble, E. J., & Shaw, D. J. (2006). Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in domestic rabbits in the United Kingdom. *The Veterinary Record*, 158(16), 539-544.
- Keeling, P. J., & Fast, N. M. (2002). Microsporidia: biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 93-116.
- Khan, I. A., Moretto, M., & Weiss, L. M. (2001). Immune response to *Encephalitozoon cuniculi* infection. *Microbes and Infection*, 3(5), 401-405.
- Künzel, F., & Fisher, P. G. (2018). Clinical Signs, Diagnosis, and Treatment of *Encephalitozoon cuniculi* Infection in Rabbits. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 21(1), 69-82.
- Künzel, F., Gruber, A., Tichy, A., Edelhofer, R., Nell, B., Hassan, J., & Joachim, A. (2008). Clinical symptoms and diagnosis of encephalitozoonosis in pet rabbits. *Veterinary Parasitology*, 151(2-4), 115-124.
- Künzel, F., & Joachim, A. (2010). Encephalitozoonosis in rabbits. *Parasitology research*, 106(2), 299-309.
- La'Toya, V. L., Bradley, C. W., & Wyre, N. R. (2014). *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits: diagnosis and optimal management. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 5, 169-180.
- Leiro, J., Cano, E., Ubeira, F. M., Orallo, F., & Sanmartín, M. L. (2004). In vitro effects of resveratrol on the viability and infectivity of the microsporidian *Encephalitozoon cuniculi*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(7), 2497-2501.
- Leland, M. M., Hubbard, G. B., & Dubey, J. P. (1992). Clinical toxoplasmosis in domestic rabbits. *Laboratory animal science*, 42(3), 318-319.
- Lennox, A. M., & Kelleher, S. (2009). Bacterial and parasitic diseases of rabbits. *Veterinary clinics of North America: exotic animal practice*, 12(3), 519-530.

- Levkutová, M., Hípková, V., Faitelzon, S., Benath, G., Paulík, S., & Levkut, M. (2004). Prevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in horses in the Israel. *Ann Agric Environ Med*, 11(2), 265-267.
- Mathis, A., Weber, R., & Deplazes, P. (2005). Zoonotic potential of the microsporidia. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(3), 423-445.
- Melillo, A. (2007). Rabbit clinical pathology. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 16(3), 135-145.
- Meredith, A., & Flecknell, P. A. (2006). *BSAVA manual of rabbit medicine and surgery*. (2nd ed.). Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Metzler, A., Ehrensperger, F., & Wyler, R. (1978). Natural Borna virus infection in rabbits. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B*, 25(2), 161-164.
- Mullan, S. M., & Main, D. C. (2006). Survey of the husbandry, health and welfare of 102 pet rabbits. *The veterinary record*, 159(4), 103-109.
- Müller, K., Fuchs, W., Heblinski, N., Teifke, J. P., Brunnberg, L., Gruber, A. D., & Klopfleisch, R. (2009). Encephalitis in a rabbit caused by human herpesvirus-1. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(1), 66-69.
- Nast, R., Middleton, D. M., & Wheler, C. L. (1996). Generalized encephalitozoonosis in a Jersey wooly rabbit. *The Canadian Veterinary Journal*, 37(5), 303.
- Orlik, J., Böttcher, K., Groß, U., & Böhne, W. (2010). Germination of phagocytosed *E. cuniculi* spores does not significantly contribute to parasitophorous vacuole formation in J774 cells. *Parasitology Research*, 106(3), 753-755.
- Patrício, R. F. G. (2014). *Seroprevalência de Encephalitozoon cuniculi em coelhos assintomáticos da região de Lisboa*. Dissertação de Mestrado em Clínica dos Novos Animais de Companhia. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Poonacha, K. B., William, P. D., & Stamper, R. D. (1985). Encephalitozoonosis in a parrot. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 186(7), 700-702.

- Reetz, J., Wiedemann, M., Aue, A., Wittstatt, U., Ochs, A., Thomschke, A., & Rinder, H. (2004). Disseminated lethal *Encephalitozoon cuniculi* (genotype III) infections in cotton-top tamarins (*Oedipomidas oedipus*) —a case report. *Parasitology International*, 53(1), 29-34.
- Reusch, B., Murray, J. K., Papasouliotis, K., & Redrobe, S. P. (2009). Urinary protein: creatinine ratio in rabbits in relation to their serological status to *Encephalitozoon cuniculi*. *The Veterinary Record*, 164(10), 293.
- Rich, G. (2010). Clinical update on testing modalities for *Encephalitozoon cuniculi* in clinically sick rabbits. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 19(3), 226-230.
- Robertson, I. D., Irwin, P. J., Lymbery, A. J., & Thompson, R. C. A. (2000). The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *International journal for Parasitology*, 30(12-13), 1369-1377.
- Rodriguez-Tovar, L. E., Speare, D. J., & Markham, R. F. (2011). Fish microsporidia: immune response, immunomodulation and vaccination. *Fish & Shellfish Immunology*, 30(4-5), 999-1006.
- Salát, J., Jelínek, J., Chmelař, J., & Kopecký, J. (2008). Efficacy of gamma interferon and specific antibody for treatment of microsporidiosis caused by *Encephalitozoon cuniculi* in SCID mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(6), 2169-2174.
- Santaniello, A., Dipineto, L., Rinaldi, L., Menna, L. F., Cringoli, G., & Fioretti, A. (2009). Serological survey of *Encephalitozoon cuniculi* in farm rabbits in Italy. *Research in Veterinary Science*, 87(1), 67-69.
- Shadduck, J. A. (1980). Effect of Furnagillin on in Vitro Multiplication of *Encephalitozoon Cuniculi*. *The Journal of Protozoology*, 27(2), 202-208.
- Shadduck, J. A., Watson, W. T., Pakes, S. P., & Cali, A. (1979). Animal infectivity of *Encephalitozoon cuniculi*. *The Journal of Parasitology*, 123-129.
- Shin, J. C., Kim, D. G., Kim, S. H., Kim, S., & Song, K. H. (2014). Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits in Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 52(3), 321.

- Sieg, J., Hein, J., Jass, A., Sauter-Louis, C., Hartmann, K., & Fischer, A. (2012). Clinical evaluation of therapeutic success in rabbits with suspected encephalitozoonosis. *Veterinary Parasitology*, 187(1-2), 328-332.
- Sprague, V., Becnel, J. J., & Hazard, E. I. (1992). Taxonomy of phylum Microspora. *Critical Reviews in Microbiology*, 18(5-6), 285-395.
- Stiles, J., Didier, E., Ritchie, B., Greenacre, C., Willis, M., & Martin, C. (1997). *Encephalitozoon cuniculi* in the lens of a rabbit with phacoclastic uveitis: confirmation and treatment. *Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 7(4), 233-238.
- Suter, C., Müller-Doblies, U. U., Hati, J., & Deplazes, P. (2001). Prevention and treatment of *Encephalitozoon*. *The Veterinary Record*, 148, 478-480.
- Talabani, H., Sarfati, C., Pillebout, E., van Gool, T., Derouin, F., & Menotti, J. (2010). Disseminated infection with a new genovar of *Encephalitozoon cuniculi* in a renal transplant recipient. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(7), 2651-2653.
- Tee, K. Y., Kao, J. P., Chiu, H. Y., Chang, M. H., Wang, J. H., Tung, K. C., & Wu, J. T. (2011). Serological survey for antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits in Taiwan. *Veterinary Parasitology*, 183(1-2), 68-71.
- Valencakova, A., Balent, P., Petrovova, E., Novotny, F., & Luptakova, L. (2008). Encephalitozoonosis in household pet Nederland Dwarf rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinary Parasitology*, 153(3-4), 265-269.
- Valencakova, A., & Halanova, M. (2012). Immune response to *Encephalitozoon infection* review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35(1), 1-7.
- Waller, T. (1979). Sensitivity of *Encephalitozoon cuniculi* to various temperatures, disinfectants and drugs. *Laboratory Animals*, 13(3), 227-230.
- Warwick, C., Arena, P. C., Steedman, C., & Jessop, M. (2012). A review of captive exotic animal-linked zoonoses. *Journal of Environmental Health Research*, 12(1), 9-24.
- Wasson, K., & Peper, R. L. (2000). Mammalian microsporidiosis. *Veterinary Pathology*, 37(2), 113-128.

Weese, J.S. & Fulford, M. (Eds.). (2010). *Companion Animal Zoonoses*. (p278-279). New Jersey: Wiley-Blackwell.

Weiss, L. M. (2001). Microsporidia: emerging pathogenic protists. *Acta Tropica*, 78(2), 89-102.

Weissenböck, H., Hainfellner, J. A., Berger, J., Kasper, I., & Budka, H. (1997). Naturally occurring herpes simplex encephalitis in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinary Pathology*, 34(1), 44-47.

Wicher, V., Baughn, R. E., Fuentealba, C., Shadduck, J. A., Abbruscato, F., & Wicher, K. (1991). Enteric infection with an obligate intracellular parasite, *Encephalitozoon cuniculi*, in an experimental model. *Infection and Immunity*, 59(7), 2225-2231.

Wittner, M. (1999). Historic perspective on the microsporidia: expanding horizons. In Wittner, M. & Weiss, L. M. (Eds.). *The microsporidia and microsporidiosis*. (pp. 1-6). American Society of Microbiology.

Wright, J. H., & Craighead, E. M. (1922). Infectious motor paralysis in young rabbits. *The Journal of Experimental Medicine*, 36(1), 135.

Wolfer, J., Grahn, B., Wilcock, B., & Percy, D. (1993). Phacoclastic uveitis in the rabbit. *Prog Vet Comp Ophthalmol*, 3(3), 92-97.

Yaoqian, P. A. N., Shuai, W. A. N. G., Xingyou, L. I. U., Ruizhen, L. I., & Yuqian, S. U. N. (2015). Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in Humans and Rabbits in China. *Iranian Journal of Parasitology*, 10(2), 290.

ANEXOS

ANEXO I- Tabela Ilustrativa das Variáveis de Interesse Registradas para cada Animal da Amostra

ID	Idade ao Diagnóstico (anos)	Idade ao Diagnóstico (grupos)	Sexo	Vários Quadros Clínicos em Conjunto
1	0,75	<3 anos	Fêmea	Não
2	0,5	<3 anos	Macho	Não
3	5	> ou = 3 anos	Macho	Sim
4	1	<3 anos	Fêmea	Não
5	5	> ou = 3 anos	Macho	Sim
6	4	> ou = 3 anos	Macho	Não
7	2	<3 anos	Fêmea	Não
8	6	> ou = 3 anos	Macho	Não
9	1	<3 anos	Macho	Não
10	2	<3 anos	Fêmea	Não
11	1	<3 anos	Macho	Não
12	0,33	<3 anos	Macho	Não
13	8	> ou = 3 anos	Macho	Sim
14	5	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
15	0,67	<3 anos	Macho	Não
16	3	> ou = 3 anos	Macho	Não
17	3	> ou = 3 anos	Macho	Sim
18	5	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
19	6	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
20	5	> ou = 3 anos	Macho	Não
21	3	> ou = 3 anos	Macho	Sim
22	2	<3 anos	Macho	Não
23	7	> ou = 3 anos	Macho	Não
24	4	> ou = 3 anos	Fêmea	Sim
25	5	> ou = 3 anos	Macho	Não
26	0,33	<3 anos	Macho	Não
27	5	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
28	0,5	<3 anos	Fêmea	Não
29	4	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
30	5	> ou = 3 anos	Macho	Sim
31	7,5	> ou = 3 anos	Macho	Não
32	0,42	<3 anos	Fêmea	Sim
33	6	> ou = 3 anos	Macho	Não
34	0,5	<3 anos	Fêmea	Não
35	4	> ou = 3 anos	Fêmea	Sim
36	1,5	<3 anos	Macho	Não
37	1	<3 anos	Fêmea	Não

ID	Idade ao Diagnóstico (anos)	Idade ao Diagnóstico (grupos)	Sexo	Vários Quadros Clínicos em Conjunto
38	2	<3 anos	Macho	Não
39	1,5	<3 anos	Macho	Não
40	2	<3 anos	Fêmea	Não
41	5	> ou = 3 anos	Macho	Sim
42	3,5	> ou = 3 anos	Macho	Não
43	6	> ou = 3 anos	Macho	Sim
44	6	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
45	0,83	<3 anos	Macho	Não
46	1	<3 anos	Macho	Não
47	1,5	<3 anos	Macho	Não
48	6	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
49	9	> ou = 3 anos	Fêmea	Sim
50	0,83	<3 anos	Macho	Não
51	3	> ou = 3 anos	Macho	Não
52	2	<3 anos	Fêmea	Não
53	0,67	<3 anos	Macho	Não
54	1	<3 anos	Macho	Sim
55	0,5	<3 anos	Macho	Não
56	0,5	<3 anos	Macho	Sim
57	5	> ou = 3 anos	Macho	Não
58	4	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
59	0,5	<3 anos	Macho	Não
60	5	> ou = 3 anos	Macho	Não
61	1	<3 anos	Macho	Não
62	0,33	<3 anos	Fêmea	Não
63	0,17	<3 anos	Fêmea	Não
64	0,25	<3 anos	Fêmea	Não
65	4	> ou = 3 anos	Macho	Sim
66	5	> ou = 3 anos	Macho	Não
67	0,25	<3 anos	Macho	Não
68	3	> ou = 3 anos	Macho	Não
69	5	> ou = 3 anos	Macho	Não
70	0,08	<3 anos	Fêmea	Não
71	6	> ou = 3 anos	Macho	Sim
72	5	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
73	6	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
74	0,17	<3 anos	Macho	Não

ID	Idade ao Diagnóstico (anos)	Idade ao Diagnóstico (grupos)	Sexo	Vários Quadros Clínicos em Conjunto
75	1	<3 anos	Fêmea	Sim
76	6	> ou = 3 anos	Macho	Sim
77	6	> ou = 3 anos	Macho	Sim
78	4	> ou = 3 anos	Macho	Não
79	3	> ou = 3 anos	Macho	Não
80	5	> ou = 3 anos	Macho	Não
81	5	> ou = 3 anos	Fêmea	Sim
82	8	> ou = 3 anos	Macho	Não
83	0,67	<3 anos	Fêmea	Sim
84	6	> ou = 3 anos	Macho	Sim
85	10	> ou = 3 anos	Macho	Sim
86	0,25	<3 anos	Fêmea	Não
87	0,75	<3 anos	Macho	Não
88	3	> ou = 3 anos	Fêmea	Sim
89	5	> ou = 3 anos	Macho	Não
90	2	<3 anos	Macho	Não
91	0,25	<3 anos	Macho	Não
92	4	> ou = 3 anos	Macho	Não
93	0,83	<3 anos	Macho	Não
94	3	> ou = 3 anos	Macho	Sim
95	3	> ou = 3 anos	Macho	Não
96	2	<3 anos	Fêmea	Não
97	0,33	<3 anos	Macho	Não
98	1	<3 anos	Macho	Não
99	0,25	<3 anos	Macho	Não
100	1,5	<3 anos	Fêmea	Não
101	4	> ou = 3 anos	Macho	Não
102	0,17	<3 anos	Fêmea	Sim
103	0,17	<3 anos	Macho	Não
104	1	<3 anos	Macho	Não
105	0,66	<3 anos	Macho	Não
106	0,33	<3 anos	Fêmea	Não
107	12	> ou = 3 anos	Macho	Sim
108	3	> ou = 3 anos	Macho	Não
109	9	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
110	3	> ou = 3 anos	Fêmea	Não
111	0,25	<3 anos	Macho	Não

ID	Quadro Clínico Neurológico	Quadro Clínico Renal	Quadro Clínico Ocular	Anorexia	Disúria
1	Sim	Não	Não	Não	Não
2	Sim	Não	Não	Não	Não
3	Sim	Sim	Não	Sim	Não
4	Não	Não	Sim	Não	Não
5	Sim	Sim	Não	Sim	Não
6	Sim	Não	Não	Não	Não
7	Não	Não	Sim	Não	Não
8	Sim	Não	Não	Sim	Não
9	Não	Não	Sim	Não	Não
10	Sim	Não	Não	Não	Não
11	Sim	Não	Não	Sim	Não
12	Sim	Não	Não	Sim	Não
13	Sim	Sim	Sim	Não	Não
14	Sim	Não	Não	Não	Não
15	Sim	Não	Não	Não	Não
16	Sim	Não	Não	Sim	Não
17	Sim	Não	Sim	Não	Não
18	Sim	Não	Não	Sim	Não
19	Sim	Não	Não	Sim	Não
20	Sim	Não	Não	Sim	Não
21	Sim	Sim	Sim	Não	Não
22	Sim	Não	Não	Sim	Não
23	Não	Não	Sim	Não	Não
24	Sim	Não	Sim	Sim	Não
25	Sim	Não	Não	Não	Não
26	Sim	Não	Não	Não	Não
27	Sim	Não	Não	Sim	Não
28	Sim	Não	Não	Sim	Não
29	Sim	Não	Não	Sim	Não
30	Sim	Sim	Não	Sim	Não
31	Sim	Não	Não	Não	Não
32	Sim	Sim	Não	Sim	Não
33	Sim	Não	Não	Sim	Não
34	Sim	Não	Não	Não	Não
35	Sim	Não	Sim	Sim	Não
36	Não	Não	Sim	Não	Não
37	Sim	Não	Não	Sim	Não

ID	Quadro Clínico Neurológico	Quadro Clínico Renal	Quadro Clínico Ocular	Anorexia	Disúria
38	Não	Não	Sim	Não	Não
39	Não	Não	Sim	Não	Não
40	Sim	Não	Não	Sim	Não
41	Sim	Sim	Não	Sim	Não
42	Sim	Não	Não	Não	Não
43	Sim	Sim	Não	Sim	Não
44	Sim	Não	Não	Não	Não
45	Não	Não	Sim	Não	Não
46	Não	Não	Sim	Não	Não
47	Não	Não	Sim	Não	Não
48	Sim	Não	Não	Não	Não
49	Sim	Sim	Não	Sim	Não
50	Não	Não	Sim	Não	Não
51	Sim	Não	Não	Não	Não
52	Sim	Não	Não	Não	Não
53	Não	Não	Sim	Não	Não
54	Sim	Sim	Não	Sim	Não
55	Sim	Não	Não	Não	Não
56	Sim	Sim	Não	Sim	Não
57	Sim	Não	Não	Sim	Não
58	Sim	Não	Não	Sim	Não
59	Sim	Não	Não	Não	Não
60	Sim	Não	Não	Sim	Não
61	Sim	Não	Não	Sim	Não
62	Sim	Não	Não	Não	Não
63	Sim	Não	Não	Sim	Não
64	Sim	Não	Não	Sim	Não
65	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
66	Sim	Não	Não	Sim	Não
67	Sim	Não	Não	Não	Não
68	Sim	Não	Não	Sim	Não
69	Sim	Não	Não	Sim	Não
70	Sim	Não	Não	Não	Não
71	Sim	Sim	Não	Sim	Não
72	Sim	Não	Não	Sim	Não
73	Sim	Não	Não	Sim	Não
74	Sim	Não	Não	Não	Não

ID	Quadro Clínico Neurológico	Quadro Clínico Renal	Quadro Clínico Ocular	Anorexia	Disúria
75	Sim	Sim	Não	Sim	Não
76	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
77	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
78	Sim	Não	Não	Não	Não
79	Sim	Não	Não	Não	Não
80	Sim	Não	Não	Sim	Não
81	Sim	Sim	Não	Sim	Não
82	Sim	Não	Não	Sim	Não
83	Sim	Sim	Não	Sim	Não
84	Sim	Sim	Não	Sim	Não
85	Sim	Sim	Não	Sim	Não
86	Sim	Não	Não	Sim	Não
87	Sim	Não	Não	Não	Não
88	Sim	Sim	Não	Sim	Não
89	Sim	Não	Não	Sim	Não
90	Sim	Não	Não	Não	Não
91	Sim	Não	Não	Não	Não
92	Sim	Não	Não	Sim	Não
93	Sim	Não	Não	Sim	Não
94	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
95	Sim	Não	Não	Não	Não
96	Sim	Não	Não	Sim	Não
97	Sim	Não	Não	Sim	Não
98	Sim	Não	Não	Não	Não
99	Sim	Não	Não	Não	Não
100	Sim	Não	Não	Sim	Não
101	Sim	Não	Não	Sim	Não
102	Sim	Não	Sim	Não	Não
103	Sim	Não	Não	Sim	Não
104	Sim	Não	Não	Sim	Não
105	Sim	Não	Não	Sim	Não
106	Sim	Não	Não	Sim	Não
107	Sim	Sim	Não	Sim	Não
108	Sim	Não	Não	Sim	Não
109	Sim	Não	Não	Não	Não
110	Sim	Não	Não	Sim	Não
111	Sim	Não	Não	Não	Não

ID	Convulsões	Dermatite do Períneo	Deformação do Globo Ocular	Hematúria	Hifema
1	Não	Não	Não	Não	Não
2	Não	Não	Não	Não	Não
3	Não	Não	Não	Não	Não
4	Não	Não	Não	Não	Não
5	Não	Não	Não	Não	Não
6	Não	Não	Não	Não	Não
7	Não	Não	Não	Não	Não
8	Não	Não	Não	Não	Não
9	Não	Não	Não	Não	Não
10	Não	Não	Não	Não	Não
11	Não	Não	Não	Não	Não
12	Não	Não	Não	Não	Não
13	Não	Não	Não	Não	Não
14	Não	Não	Não	Não	Não
15	Não	Não	Não	Não	Não
16	Não	Não	Não	Não	Não
17	Não	Não	Não	Não	Não
18	Não	Não	Não	Não	Não
19	Não	Não	Não	Não	Não
20	Não	Não	Não	Não	Não
21	Não	Não	Não	Não	Não
22	Não	Não	Não	Não	Não
23	Não	Não	Não	Não	Não
24	Não	Não	Não	Não	Não
25	Não	Não	Não	Não	Não
26	Não	Não	Não	Não	Não
27	Não	Não	Não	Não	Não
28	Não	Não	Não	Não	Não
29	Não	Não	Não	Não	Não
30	Não	Não	Não	Não	Não
31	Não	Não	Não	Não	Não
32	Não	Não	Não	Não	Não
33	Não	Não	Não	Não	Não
34	Não	Não	Não	Não	Não
35	Não	Não	Não	Não	Não
36	Não	Não	Não	Não	Não
37	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Convulsões	Dermatite do Períneo	Deformação do Globo Ocular	Hematúria	Hifema
38	Não	Não	Não	Não	Não
39	Não	Não	Não	Não	Sim
40	Não	Não	Não	Não	Não
41	Não	Não	Não	Não	Não
42	Não	Não	Não	Não	Não
43	Não	Não	Não	Sim	Não
44	Não	Não	Não	Não	Não
45	Não	Não	Não	Não	Não
46	Não	Não	Sim	Não	Sim
47	Não	Não	Não	Não	Não
48	Não	Não	Não	Não	Não
49	Não	Sim	Não	Não	Não
50	Não	Não	Não	Não	Não
51	Não	Não	Não	Não	Não
52	Não	Não	Não	Não	Não
53	Não	Não	Não	Não	Não
54	Não	Não	Não	Não	Não
55	Não	Não	Não	Não	Não
56	Sim	Não	Não	Não	Não
57	Não	Não	Não	Não	Não
58	Não	Não	Não	Não	Não
59	Não	Não	Não	Não	Não
60	Não	Não	Não	Não	Não
61	Não	Não	Não	Não	Não
62	Não	Não	Não	Não	Não
63	Não	Não	Não	Não	Não
64	Não	Não	Não	Não	Não
65	Não	Não	Não	Não	Não
66	Não	Não	Não	Não	Não
67	Não	Não	Não	Não	Não
68	Não	Não	Não	Não	Não
69	Não	Não	Não	Não	Não
70	Não	Não	Não	Não	Não
71	Não	Não	Não	Não	Não
72	Não	Não	Não	Não	Não
73	Não	Não	Não	Não	Não
74	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Convulsões	Dermatite do Períneo	Deformação do Globo Ocular	Hematúria	Hifema
75	Não	Sim	Não	Não	Não
76	Não	Não	Não	Não	Não
77	Não	Sim	Não	Não	Não
78	Não	Não	Não	Não	Não
79	Não	Não	Não	Não	Não
80	Não	Não	Não	Não	Não
81	Não	Não	Não	Não	Não
82	Não	Não	Não	Não	Não
83	Sim	Não	Não	Sim	Não
84	Não	Não	Não	Não	Não
85	Não	Não	Não	Não	Não
86	Não	Não	Não	Não	Não
87	Não	Não	Não	Não	Não
88	Não	Sim	Não	Não	Não
89	Não	Não	Não	Não	Não
90	Não	Não	Não	Não	Não
91	Não	Não	Não	Não	Não
92	Não	Não	Não	Não	Não
93	Não	Não	Não	Não	Não
94	Não	Não	Não	Não	Não
95	Não	Não	Não	Não	Não
96	Não	Não	Não	Não	Não
97	Não	Não	Não	Não	Não
98	Não	Não	Não	Não	Não
99	Não	Não	Não	Não	Não
100	Não	Não	Não	Não	Não
101	Não	Não	Não	Não	Não
102	Não	Não	Não	Não	Não
103	Não	Não	Não	Não	Não
104	Não	Não	Não	Não	Não
105	Não	Não	Não	Não	Não
106	Não	Não	Não	Não	Não
107	Não	Sim	Não	Não	Não
108	Não	Não	Não	Não	Não
109	Não	Não	Não	Não	Não
110	Não	Não	Não	Não	Não
111	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Descoordenação	Cegueira	Parésia dos Membros Posteriores	Hipotermia	Catarata
1	Não	Não	Não	Não	Não
2	Não	Não	Não	Não	Não
3	Não	Não	Não	Não	Não
4	Não	Não	Não	Não	Não
5	Não	Não	Não	Não	Não
6	Não	Não	Não	Não	Não
7	Não	Não	Não	Não	Não
8	Não	Não	Não	Não	Não
9	Não	Não	Não	Não	Não
10	Não	Não	Não	Não	Não
11	Não	Não	Não	Não	Não
12	Não	Não	Não	Não	Não
13	Não	Não	Não	Não	Sim
14	Não	Não	Não	Não	Não
15	Não	Não	Não	Não	Não
16	Não	Não	Não	Não	Não
17	Não	Não	Não	Não	Não
18	Não	Não	Não	Não	Não
19	Não	Não	Não	Sim	Não
20	Não	Não	Não	Não	Não
21	Não	Não	Não	Não	Não
22	Não	Não	Não	Não	Não
23	Não	Não	Não	Não	Não
24	Não	Não	Não	Não	Sim
25	Não	Não	Não	Não	Não
26	Não	Não	Não	Não	Não
27	Não	Não	Sim	Não	Não
28	Não	Não	Não	Não	Não
29	Não	Não	Não	Não	Não
30	Não	Não	Não	Não	Não
31	Não	Não	Não	Não	Não
32	Não	Não	Não	Não	Não
33	Não	Não	Não	Não	Não
34	Sim	Não	Não	Não	Não
35	Não	Não	Não	Não	Não
36	Não	Não	Não	Não	Não
37	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Descoordenação	Cegueira	Parésia dos Membros Posteriores	Hipotermia	Catarata
38	Não	Não	Não	Não	Não
39	Não	Não	Não	Não	Não
40	Não	Não	Não	Não	Não
41	Não	Sim	Sim	Não	Não
42	Não	Não	Não	Não	Não
43	Não	Não	Não	Não	Não
44	Não	Não	Não	Não	Não
45	Não	Não	Não	Não	Não
46	Não	Não	Não	Não	Não
47	Não	Não	Não	Não	Não
48	Não	Não	Não	Não	Não
49	Não	Não	Sim	Não	Não
50	Não	Não	Não	Não	Não
51	Sim	Não	Não	Não	Não
52	Não	Não	Não	Não	Não
53	Não	Não	Não	Não	Não
54	Não	Sim	Não	Não	Não
55	Não	Não	Não	Não	Não
56	Não	Não	Não	Não	Não
57	Não	Não	Não	Não	Não
58	Não	Não	Não	Não	Não
59	Sim	Não	Não	Não	Não
60	Não	Não	Não	Não	Não
61	Não	Não	Não	Não	Não
62	Não	Não	Não	Não	Não
63	Não	Não	Não	Não	Não
64	Não	Não	Não	Não	Não
65	Não	Não	Não	Não	Sim
66	Não	Não	Não	Não	Não
67	Não	Não	Não	Não	Não
68	Não	Não	Não	Não	Não
69	Não	Não	Não	Não	Não
70	Não	Não	Não	Não	Não
71	Não	Não	Não	Não	Não
72	Não	Não	Não	Não	Não
73	Não	Não	Não	Não	Não
74	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Descoordenação	Cegueira	Parésia dos Membros Posteriores	Hipotermia	Catarata
75	Não	Não	Não	Não	Não
76	Não	Não	Não	Não	Não
77	Não	Não	Sim	Não	Não
78	Não	Não	Não	Não	Não
79	Não	Não	Não	Não	Não
80	Não	Não	Não	Não	Não
81	Não	Não	Sim	Não	Não
82	Não	Não	Sim	Não	Não
83	Não	Não	Não	Não	Não
84	Não	Não	Não	Não	Não
85	Não	Não	Não	Não	Não
86	Não	Não	Não	Não	Não
87	Não	Não	Não	Não	Não
88	Não	Não	Não	Não	Não
89	Não	Não	Não	Não	Não
90	Não	Não	Não	Não	Não
91	Não	Não	Não	Não	Não
92	Não	Não	Não	Não	Não
93	Não	Não	Não	Não	Não
94	Não	Não	Não	Não	Não
95	Não	Não	Não	Não	Não
96	Não	Não	Não	Não	Não
97	Não	Não	Não	Não	Não
98	Não	Não	Não	Não	Não
99	Não	Não	Não	Não	Não
100	Não	Não	Não	Não	Não
101	Não	Não	Não	Não	Não
102	Não	Não	Não	Não	Não
103	Não	Não	Não	Não	Não
104	Não	Não	Não	Não	Não
105	Não	Não	Não	Não	Não
106	Não	Não	Não	Não	Não
107	Não	Não	Não	Não	Não
108	Não	Não	Não	Não	Não
109	Não	Não	Não	Não	Não
110	Não	Não	Não	Não	Não
111	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Incontinência Urinária	Úlcera de córnea	Blefarospasmo	Conjuntivite	Uveíte Facoclástica
1	Não	Não	Não	Não	Não
2	Não	Não	Não	Não	Não
3	Não	Não	Não	Não	Não
4	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
5	Não	Não	Não	Não	Não
6	Não	Não	Não	Não	Não
7	Não	Não	Não	Não	Sim
8	Não	Não	Não	Não	Não
9	Não	Não	Não	Não	Sim
10	Não	Não	Não	Não	Não
11	Não	Não	Não	Não	Não
12	Não	Não	Não	Não	Não
13	Sim	Não	Não	Não	Não
14	Não	Não	Não	Não	Não
15	Não	Não	Não	Não	Não
16	Não	Não	Não	Não	Não
17	Não	Não	Não	Não	Sim
18	Não	Não	Não	Não	Não
19	Não	Não	Não	Não	Não
20	Não	Não	Não	Não	Não
21	Sim	Não	Não	Não	Sim
22	Não	Não	Não	Não	Não
23	Não	Não	Não	Não	Sim
24	Não	Não	Não	Não	Sim
25	Não	Não	Não	Não	Não
26	Não	Não	Não	Não	Não
27	Não	Não	Não	Não	Não
28	Não	Não	Não	Não	Não
29	Não	Não	Não	Não	Não
30	Não	Não	Não	Não	Não
31	Não	Não	Não	Não	Não
32	Sim	Não	Não	Não	Não
33	Não	Não	Não	Não	Não
34	Não	Não	Não	Não	Não
35	Não	Não	Não	Não	Sim
36	Não	Não	Não	Não	Sim
37	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Incontinência Urinária	Úlcera de córnea	Blefarospasmo	Conjuntivite	Uveíte Facoclástica
38	Não	Não	Não	Não	Sim
39	Não	Não	Não	Não	Sim
40	Não	Não	Não	Não	Não
41	Não	Não	Não	Não	Não
42	Não	Não	Não	Não	Não
43	Não	Não	Não	Não	Não
44	Não	Não	Não	Não	Não
45	Não	Não	Não	Não	Sim
46	Não	Não	Não	Não	Sim
47	Não	Não	Não	Não	Sim
48	Não	Não	Não	Não	Não
49	Sim	Não	Não	Não	Não
50	Não	Não	Não	Não	Sim
51	Não	Não	Não	Não	Não
52	Não	Não	Não	Não	Não
53	Não	Não	Não	Não	Sim
54	Não	Não	Não	Não	Não
55	Não	Não	Não	Não	Não
56	Sim	Não	Não	Não	Não
57	Não	Não	Não	Não	Não
58	Não	Não	Não	Não	Não
59	Não	Não	Não	Não	Não
60	Não	Não	Não	Não	Não
61	Não	Não	Não	Não	Não
62	Não	Não	Não	Não	Não
63	Não	Não	Não	Não	Não
64	Não	Não	Não	Não	Não
65	Sim	Não	Não	Não	Não
66	Não	Não	Não	Não	Não
67	Não	Não	Não	Não	Não
68	Não	Não	Não	Não	Não
69	Não	Não	Não	Não	Não
70	Não	Não	Não	Não	Não
71	Não	Não	Não	Não	Não
72	Não	Não	Não	Não	Não
73	Não	Não	Não	Não	Não
74	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Incontinência Urinária	Úlcera de córnea	Blefarospasmo	Conjuntivite	Uveíte Facoclástica
75	Sim	Não	Não	Não	Não
76	Sim	Não	Não	Não	Sim
77	Sim	Não	Não	Sim	Sim
78	Não	Não	Não	Não	Não
79	Não	Não	Não	Não	Não
80	Não	Não	Não	Não	Não
81	Não	Não	Não	Não	Não
82	Não	Não	Não	Não	Não
83	Não	Não	Não	Não	Não
84	Não	Não	Não	Não	Não
85	Sim	Não	Não	Não	Não
86	Não	Não	Não	Não	Não
87	Não	Não	Não	Não	Não
88	Sim	Não	Não	Não	Não
89	Não	Não	Não	Não	Não
90	Não	Não	Não	Não	Não
91	Não	Não	Não	Não	Não
92	Não	Não	Não	Não	Não
93	Não	Não	Não	Não	Não
94	Sim	Não	Não	Não	Não
95	Não	Não	Não	Não	Não
96	Não	Não	Não	Não	Não
97	Não	Não	Não	Não	Não
98	Não	Não	Não	Não	Não
99	Não	Não	Não	Não	Não
100	Não	Não	Não	Não	Não
101	Não	Não	Não	Não	Não
102	Não	Não	Sim	Não	Sim
103	Não	Não	Não	Não	Não
104	Não	Não	Não	Não	Não
105	Não	Não	Não	Não	Não
106	Não	Não	Não	Não	Não
107	Sim	Não	Não	Não	Não
108	Não	Não	Não	Não	Não
109	Não	Não	Não	Não	Não
110	Não	Não	Não	Não	Não
111	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Desidratação	Apatia	Head Tilt	Gravidade de Head Tilt	Nistagmus	Rolling
1	Não	Não	Não	NA ¹	Sim	Não
2	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
3	Sim	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
4	Não	Não	Não	NA	Não	Não
5	Sim	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
6	Não	Não	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
7	Não	Não	Não	NA	Não	Não
8	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
9	Não	Não	Não	NA	Não	Não
10	Não	Não	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
11	Não	Não	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
12	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
13	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
14	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
15	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
16	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
17	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
18	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
19	Não	Não	Sim	Marcado	Sim	Sim
20	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
21	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
22	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
23	Não	Não	Não	NA	Não	Não
24	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
25	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
26	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
27	Não	Não	Não	NA	Não	Não
28	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
29	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
30	Sim	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
31	Não	Não	Sim	Marcado	Sim	Sim
32	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
33	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
34	Não	Não	Não	NA	Não	Não
35	Não	Não	Sim	Marcado	Sim	Sim
36	Não	Não	Não	NA	Não	Não
37	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não

¹ Não Aplicável.

ID	Desidratação	Apatia	Head Tilt	Gravidade de Head Tilt	Nistagmus	Rolling
38	Não	Não	Não	NA	Não	Não
39	Não	Não	Não	NA	Não	Não
40	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
41	Sim	Sim	Não	NA	Não	Não
42	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
43	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
44	Não	Não	Sim	Marcado	Sim	Não
45	Não	Não	Não	NA	Não	Não
46	Não	Não	Não	NA	Não	Não
47	Não	Não	Não	NA	Não	Não
48	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
49	Não	Sim	Não	NA	Não	Não
50	Não	Não	Não	NA	Não	Não
51	Não	Não	Não	NA	Não	Não
52	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
53	Não	Não	Não	NA	Não	Não
54	Sim	Sim	Não	NA	Não	Não
55	Não	Não	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
56	Sim	Sim	Não	NA	Não	Não
57	Não	Sim	Sim	Marcado	Sim	Sim
58	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
59	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
60	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
61	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
62	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
63	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
64	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
65	Sim	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
66	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
67	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
68	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
69	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
70	Não	Não	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
71	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
72	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
73	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
74	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim

ID	Desidratação	Apatia	Head Tilt	Gravidade de Head Tilt	Nistagmus	Rolling
75	Não	Sim	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
76	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
77	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
78	Não	Não	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
79	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
80	Não	Sim	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
81	Não	Sim	Não	NA	Não	Não
82	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
83	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
84	Sim	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
85	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
86	Não	Não	Sim	Marcado	Sim	Não
87	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
88	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
89	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
90	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
91	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
92	Não	Sim	Sim	Marcado	Sim	Sim
93	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
94	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
95	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
96	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
97	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
98	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
99	Não	Não	Sim	Marcado	Sim	Não
100	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
101	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
102	Não	Não	Sim	Marcado	Sim	Sim
103	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Sim
104	Não	Não	Sim	Marcado	Sim	Sim
105	Não	Sim	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
106	Não	Não	Sim	Ligeiro e Intermitente	Não	Não
107	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Não
108	Não	Sim	Sim	Marcado	Não	Sim
109	Não	Não	Sim	Marcado	Sim	Não
110	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não
111	Não	Não	Sim	Marcado	Não	Não

ID	<i>Circling</i>	Presença de Doenças Concomitantes	Doença Dentária Adquirida	Hipomotilidade Gastrointestinal	Infeção Respiratória Superior
1	Não	Não	Não	Não	Não
2	Não	Não	Não	Não	Não
3	Não	Não	Não	Não	Não
4	Não	Sim	Sim	Não	Não
5	Não	Sim	Sim	Não	Não
6	Não	Sim	Sim	Não	Não
7	Não	Não	Não	Não	Não
8	Não	Sim	Sim	Não	Não
9	Não	Não	Não	Não	Não
10	Não	Não	Não	Não	Não
11	Sim	Não	Não	Não	Não
12	Não	Não	Não	Não	Não
13	Não	Sim	Sim	Não	Não
14	Não	Não	Não	Não	Não
15	Não	Não	Não	Não	Não
16	Não	Não	Não	Não	Não
17	Não	Não	Não	Não	Não
18	Não	Não	Não	Não	Não
19	Não	Sim	Não	Não	Sim
20	Não	Sim	Não	Não	Sim
21	Não	Não	Não	Não	Não
22	Não	Não	Não	Não	Não
23	Não	Não	Não	Não	Não
24	Não	Sim	Sim	Sim	Não
25	Sim	Não	Não	Não	Não
26	Não	Não	Não	Não	Não
27	Não	Não	Não	Não	Não
28	Não	Sim	Não	Não	Sim
29	Não	Não	Não	Não	Não
30	Não	Sim	Sim	Sim	Não
31	Não	Não	Não	Não	Não
32	Não	Não	Não	Não	Não
33	Não	Não	Não	Não	Não
34	Não	Não	Não	Não	Não
35	Não	Não	Não	Não	Não
36	Não	Não	Não	Não	Não
37	Não	Sim	Não	Sim	Não

ID	<i>Circling</i>	Presença de Doenças Concomitantes	Doença Dentária Adquirida	Hipomotilidade Gastrointestinal	Infeção Respiratória Superior
38	Não	Não	Não	Não	Não
39	Não	Não	Não	Não	Não
40	Não	Não	Não	Não	Não
41	Sim	Não	Não	Não	Não
42	Sim	Não	Não	Não	Não
43	Não	Não	Não	Não	Não
44	Não	Não	Não	Não	Não
45	Não	Não	Não	Não	Não
46	Não	Não	Não	Não	Não
47	Não	Não	Não	Não	Não
48	Não	Sim	Não	Não	Sim
49	Não	Não	Não	Não	Não
50	Não	Não	Não	Não	Não
51	Não	Não	Não	Não	Não
52	Não	Não	Não	Não	Não
53	Não	Não	Não	Não	Não
54	Não	Sim	Sim	Não	Não
55	Não	Não	Não	Não	Não
56	Não	Não	Não	Não	Não
57	Não	Sim	Sim	Não	Sim
58	Não	Não	Não	Não	Não
59	Não	Não	Não	Não	Não
60	Não	Sim	Sim	Não	Não
61	Não	Não	Não	Não	Não
62	Não	Não	Não	Não	Não
63	Não	Sim	Não	Não	Não
64	Não	Não	Não	Não	Não
65	Não	Sim	Não	Não	Sim
66	Não	Não	Não	Não	Não
67	Não	Sim	Não	Não	Não
68	Não	Não	Não	Não	Não
69	Não	Sim	Sim	Não	Não
70	Não	Não	Não	Não	Não
71	Não	Não	Não	Não	Não
72	Não	Não	Não	Não	Não
73	Não	Não	Não	Não	Não
74	Não	Não	Não	Não	Não

ID	<i>Circling</i>	Presença de Doenças Concomitantes	Doença Dentária Adquirida	Hipomotilidade Gastrointestinal	Infeção Respiratória Superior
75	Não	Não	Não	Não	Não
76	Não	Sim	Não	Não	Sim
77	Não	Não	Não	Não	Não
78	Não	Não	Não	Não	Não
79	Não	Sim	Não	Não	Sim
80	Sim	Sim	Não	Não	Sim
81	Não	Não	Não	Não	Não
82	Não	Sim	Sim	Não	Não
83	Não	Não	Não	Não	Não
84	Não	Não	Não	Não	Não
85	Não	Não	Não	Não	Não
86	Sim	Não	Não	Não	Não
87	Não	Não	Não	Não	Não
88	Não	Não	Não	Não	Não
89	Não	Sim	Sim	Não	Não
90	Não	Não	Não	Não	Não
91	Não	Não	Não	Não	Não
92	Não	Não	Não	Não	Não
93	Não	Não	Não	Não	Não
94	Não	Sim	Sim	Não	Não
95	Não	Sim	Não	Não	Sim
96	Não	Não	Não	Não	Não
97	Não	Não	Não	Não	Não
98	Não	Não	Não	Não	Não
99	Não	Não	Não	Não	Não
100	Não	Sim	Sim	Não	Sim
101	Não	Não	Não	Não	Não
102	Não	Sim	Não	Não	Sim
103	Não	Não	Não	Não	Não
104	Não	Não	Não	Não	Não
105	Não	Não	Não	Não	Não
106	Não	Não	Não	Não	Não
107	Não	Sim	Não	Não	Não
108	Não	Não	Não	Não	Não
109	Não	Não	Não	Não	Não
110	Não	Não	Não	Não	Não
111	Não	Não	Não	Não	Não

ID	Coccidiose Intestinal	Tumor Testicular	Sarna Sarcóptica	Número de Recidivas	Recidiva
1	Não	Não	Não	0	Não
2	Não	Não	Não	0	Não
3	Não	Não	Não	0	Não
4	Não	Não	Não	0	Não
5	Não	Não	Não	1	Sim
6	Não	Não	Não	0	Não
7	Não	Não	Não	0	Não
8	Não	Não	Não	0	Não
9	Não	Não	Não	0	Não
10	Não	Não	Não	0	Não
11	Não	Não	Não	1	Sim
12	Não	Não	Não	0	Não
13	Não	Não	Não	2	Sim
14	Não	Não	Não	0	Não
15	Não	Não	Não	0	Não
16	Não	Não	Não	0	Não
17	Não	Não	Não	0	Não
18	Não	Não	Não	0	Não
19	Não	Não	Não	0	Não
20	Não	Não	Não	0	Não
21	Não	Não	Não	0	Não
22	Não	Não	Não	0	Não
23	Não	Não	Não	0	Não
24	Não	Não	Não	3	Sim
25	Não	Não	Não	0	Não
26	Não	Não	Não	1	Sim
27	Não	Não	Não	0	Não
28	Não	Não	Não	1	Sim
29	Não	Não	Não	0	Não
30	Não	Não	Não	1	Sim
31	Não	Não	Não	0	Não
32	Não	Não	Não	2	Sim
33	Não	Não	Não	0	Não
34	Não	Não	Não	0	Não
35	Não	Não	Não	0	Não
36	Não	Não	Não	0	Não
37	Não	Não	Não	0	Não

ID	Coccidiose Intestinal	Tumor Testicular	Sarna Sarcóptica	Número de Recidivas	Recidiva
38	Não	Não	Não	0	Não
39	Não	Não	Não	0	Não
40	Não	Não	Não	0	Não
41	Não	Não	Não	0	Não
42	Não	Não	Não	1	Sim
43	Não	Não	Não	0	Não
44	Não	Não	Não	0	Não
45	Não	Não	Não	0	Não
46	Não	Não	Não	0	Não
47	Não	Não	Não	0	Não
48	Não	Não	Não	1	Sim
49	Não	Não	Não	1	Sim
50	Não	Não	Não	0	Não
51	Não	Não	Não	0	Não
52	Não	Não	Não	0	Não
53	Não	Não	Não	0	Não
54	Não	Não	Não	1	Sim
55	Não	Não	Não	1	Sim
56	Não	Não	Não	0	Não
57	Não	Não	Não	0	Não
58	Não	Não	Não	0	Não
59	Não	Não	Não	1	Sim
60	Não	Não	Não	0	Não
61	Não	Não	Não	0	Não
62	Não	Não	Não	0	Não
63	Sim	Não	Não	0	Não
64	Não	Não	Não	0	Não
65	Não	Não	Não	0	Não
66	Não	Não	Não	0	Não
67	Sim	Não	Não	0	Não
68	Não	Não	Não	0	Não
69	Não	Não	Não	1	Sim
70	Não	Não	Não	0	Não
71	Não	Não	Não	0	Não
72	Não	Não	Não	0	Não
73	Não	Não	Não	0	Não
74	Não	Não	Não	0	Não

ID	Coccidiose Intestinal	Tumor Testicular	Sarna Sarcóptica	Número de Recidivas	Recidiva
75	Não	Não	Não	1	Sim
76	Não	Não	Não	0	Não
77	Não	Não	Não	0	Não
78	Não	Não	Não	1	Sim
79	Não	Não	Não	0	Não
80	Não	Não	Não	0	Não
81	Não	Não	Não	0	Não
82	Não	Não	Não	0	Não
83	Não	Não	Não	0	Não
84	Não	Não	Não	0	Não
85	Não	Não	Não	0	Não
86	Não	Não	Não	0	Não
87	Não	Não	Não	0	Não
88	Não	Não	Não	1	Sim
89	Não	Não	Sim	0	Não
90	Não	Não	Não	0	Não
91	Não	Não	Não	0	Não
92	Não	Não	Não	1	Sim
93	Não	Não	Não	0	Não
94	Não	Não	Não	1	Sim
95	Não	Não	Não	0	Não
96	Não	Não	Não	0	Não
97	Não	Não	Não	0	Não
98	Não	Não	Não	0	Não
99	Não	Não	Não	0	Não
100	Não	Não	Não	0	Não
101	Não	Não	Não	0	Não
102	Sim	Não	Não	1	Sim
103	Não	Não	Não	0	Não
104	Não	Não	Não	0	Não
105	Não	Não	Não	0	Não
106	Não	Não	Não	0	Não
107	Não	Sim	Não	0	Não
108	Não	Não	Não	0	Não
109	Não	Não	Não	0	Não
110	Não	Não	Não	0	Não
111	Não	Não	Não	0	Não

ID	Sequelas	Desfecho	<i>Compliance</i>
1	Não	Positivo	Positivo
2	Não	Positivo	Positivo
3	Sim	Positivo	Positivo
4	Sim	Positivo	Positivo
5	NA	Negativo	Positivo
6	Não	Positivo	Positivo
7	Não	Positivo	Positivo
8	NA	Negativo	Positivo
9	Não	Positivo	Positivo
10	Não	Positivo	Positivo
11	NA	Negativo	Positivo
12	Sim	Positivo	Positivo
13	Não	Positivo	Positivo
14	Não	Positivo	Positivo
15	Sim	Positivo	Positivo
16	NA	Negativo	Positivo
17	Não	Positivo	Positivo
18	NA	Negativo	Positivo
19	NA	Negativo	Positivo
20	NA	Negativo	Positivo
21	NA	Negativo	Positivo
22	NA	Negativo	Positivo
23	Não	Positivo	Positivo
24	NA	Negativo	Positivo
25	Não	Positivo	Positivo
26	Sim	Positivo	Positivo
27	NA	Negativo	Positivo
28	NA	Negativo	Positivo
29	NA	Negativo	Positivo
30	NA	Negativo	Positivo
31	Sim	Positivo	Positivo
32	NA	Negativo	Positivo
33	NA	Negativo	Positivo
34	Não	Positivo	Positivo
35	NA	Negativo	Positivo
36	NA	Negativo	Positivo
37	NA	Negativo	Positivo

ID	Sequelas	Desfecho	<i>Compliance</i>
38	Não	Positivo	Positivo
39	NA	Negativo	Positivo
40	NA	Negativo	Positivo
41	NA	Negativo	Positivo
42	NA	Negativo	Positivo
43	NA	Negativo	Positivo
44	Sim	Positivo	Positivo
45	Não	Positivo	Positivo
46	Não	Positivo	Positivo
47	NA	Negativo	Positivo
48	Sim	Positivo	Positivo
49	NA	Negativo	Positivo
50	Não	Positivo	Positivo
51	Não	Positivo	Positivo
52	Não	Positivo	Positivo
53	NA	Negativo	Positivo
54	NA	Negativo	Positivo
55	Não	Positivo	Positivo
56	NA	Negativo	Positivo
57	NA	Negativo	Positivo
58	NA	Negativo	Positivo
59	NA	Negativo	Negativo
60	Sim	Positivo	Positivo
61	NA	Negativo	Positivo
62	Não	Positivo	Positivo
63	NA	Negativo	Positivo
64	Sim	Positivo	Positivo
65	NA	Negativo	Positivo
66	NA	Negativo	Positivo
67	Não	Positivo	Positivo
68	Não	Positivo	Positivo
69	Não	Positivo	Positivo
70	Não	Positivo	Positivo
71	NA	Negativo	Positivo
72	Sim	Positivo	Positivo
73	NA	Negativo	Positivo
74	Não	Positivo	Positivo

ID	Sequelas	Desfecho	<i>Compliance</i>
75	Sim	Positivo	Positivo
76	NA	Negativo	Positivo
77	NA	Negativo	Positivo
78	Não	Positivo	Positivo
79	Não	Positivo	Positivo
80	Sim	Positivo	Positivo
81	NA	Negativo	Positivo
82	NA	Negativo	Positivo
83	NA	Negativo	Positivo
84	NA	Negativo	Positivo
85	NA	Negativo	Positivo
86	NA	Negativo	Positivo
87	Sim	Positivo	Positivo
88	NA	Negativo	Positivo
89	Sim	Positivo	Positivo
90	Não	Positivo	Positivo
91	Não	Positivo	Positivo
92	NA	Negativo	Positivo
93	NA	Negativo	Positivo
94	Sim	Positivo	Positivo
95	Não	Positivo	Positivo
96	NA	Negativo	Positivo
97	NA	Negativo	Negativo
98	Não	Positivo	Positivo
99	Não	Positivo	Positivo
100	Não	Positivo	Positivo
101	NA	Negativo	Negativo
102	NA	Negativo	Positivo
103	NA	Negativo	Positivo
104	Sim	Positivo	Positivo
105	Sim	Positivo	Positivo
106	Não	Positivo	Positivo
107	NA	Negativo	Positivo
108	NA	Negativo	Positivo
109	Não	Positivo	Positivo
110	Sim	Positivo	Positivo
111	Não	Positivo	Positivo